RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXI - N. 4 - Dicembre 1960

LA SIEROLOGIA DELL'AMEBIASI: NOTA VI: STUDIO SULLA INFLUENZA DEGLI ANTIGENI BATTERICI IN PROVE DI R.D.C. SU SIERI "NORMALI" SAGGIATI CON CRIOLISATI OTTENUTI DA VARIE ENTAMOEBE (*E. HISTOLYTICA, E. INVADENS, E. MOSHKOVSKII*) E DALLE RELATIVE FLORE BATTERICHE ASSOCIATE (*)

L. Magaudda-Borzì, L. Pennisi e B. Bertucci (**)

Gli AA. hanno saggiato 1653 sieri di soggetti « normali », in prova di d.c. (secondo Kolmer 1/5) con 11 antigeni amebici (allestiti da nove ceppi di *E.histolytica*, da un ceppo di *E.invadens*, e da uno di *E.moshkovskii*) e con undici antigeni batterici derivati dalle relative flore batteriche associate.

In base ai risultati ottenuti affermano che gli antigeni batterici non esercitano alcuna influenza sulla specificità e sensibilità degli antigeni amebici e che una certa percentuale (7,44%) della popolazione normale è dotata di anticorpi antiamebici che potrebbero definirsi « naturali ».

Introduzione

In una nota precedente (De Blasi e Magaudda-Borzì, 4) si accennava alla eventuale influenza della flora batterica associata sulla sensibilità e specificità degli antigeni estratti da *E. histolytica*. Si pensava alla possibilità che estratti preparati, con le varie metodiche, da *E. histolytica* contenessero anche quote di antigeni batterici che avrebbero potuto interferire nelle reazioni sierologiche deviandole, con ogni probabilità, verso una falsa positività.

Si era già accennato agli studi di Fulton (7), il quale, saggiando un immunsiero anti-*histolytica* con un antigene estratto da un colonbatterio associato alla coltura, ebbe positività con l'antigene amebico al titolo di 1 : 640 e con l'antigene preparato dal colonbatterio solo a titolo di 1:20. A sua volta un immunsiero anti-*coli* diede positività al titolo di 1:80 con antigene omologo e di 1:20 con quello amebico. Schubert (15) con un ceppo di *E.histolytica*, coltivato in terreno di B.D. in associazione ad *organismo t*, allestì tre tipi di antigene: uno amebico, uno dell'*organismo t* ed uno dal semplice terreno di coltura. Dai risultati delle prove comparative eseguite su 49 sieri (vedi tabella inserita nella nota II) risultò evidente come né l'antigene preparato con l'*organismo t* né quello preparato con il semplice terreno colturale interferissero in

(*) Lavoro eseguito con il contributo del C.N.R.
(**) *Istituto di Igiene della Università di Messina* (Direttore: Prof. R. De Blasi).

modo evidente sulla sensibilità e specificità dell'antigene amebico. Lo studio condotto, poi, su 8724 campioni di siero, negativi per l'antigene amebico, evidenziò tre sole positività con l'antigene preparato dall'*organismo t*, mentre nessun siero rispose all'antigene allestito con il terreno colturale. Queste modeste interferenze potrebbero essere attribuite, in accordo allo stesso Schubert, ad impurezza degli estratti, contenenti antigeni non specifici. Ciò d'altro canto è evidente se si pensa che gli antigeni usati nelle prove suddescritte sono stati preparati con la tecnica di Rees, che è la seguente: raccolta del sedimento amebico da 20 fiasche di coltura in terreno di B.D. e concentrazione a 50 cc. mediante centrifugazione. Titolazione del numero dei trofozoiti e successiva centrifugazione con allontanamento del supernatante; sostituzione con nuovo Locke e nuova centrifugazione. Dopo aver riportato al volume originale di 50 cc., si sottopone una sola volta a criolisi, centrifugando, infine, ad alto numero di giri onde ottenere un supernatante limpido che costituisce l'antigene. E' evidente che con tale tecnica, che prevede praticamente un solo lavaggio del materiale, restino nell'antigene molti cataboliti e sostanze provenienti dal terreno.

Con questa metodica lo stesso Rees (14) allestì un antigene da un ceppo di *E. histolytica*, dall'*organismo t simbionte* e dal terreno colturale. Contemporaneamente immunizzò dei conigli iniettando una sospensione di *E. histolytica*, ripetutamente lavata e «*quanto più possibile libera da organismi t*», una sospensione di soli *organismi t* ed, infine, il semplice terreno colturale. Ottenne in tal modo i tre rispettivi immunsieri con cui eseguì prove crociate con i vari antigeni (vedi Tabella 1, riportata da Rees).

TABELLA 1

Siero	Antigene *E. histolytica*					Antigene *Organismo t.*				
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32
					Immunsiero anti-*histolytica*					
1: 2	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+	±	—	—
1: 4	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—	—	—
1: 8	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—	—	—
1: 16	++++	++++	++++	++++	++++	—	—	—	—	—
1: 64	++++	++++	++++	++++	++	—	—			
1:128	++++	++++	++++	++++	++	—				
1:512	++++	++++	++++	+	—	—	—			
					Immunsiero anti-*organismo t*					
1: 2	++++	+	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++
1: 4	+++	±	—							
1: 8	+	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++
1: 16	—	—	—	—	—	++++	++++	++++	++++	++++
1: 32						++++	++++	++++	++++	++++
1:128						++	+++	+++	+++	—

Dall'esame della tabella, riportata da Rees, si può chiaramente notare come la reazione crociata tra immunsiero anti-*histolytica* ed antigene preparato dall'*organismo t* sia molto modesta, specie se si tiene conto della tecnica di preparazione degli antigeni usati per la preparazione dell'immunsiero e per le prove di deviazione del complemento. Lo stesso dicasi per l'immunsiero anti-*organismo t* con l'antigene amebico; l'immunsiero allestito con il terreno colturale non reagì, poi, né con l'antigene amebico né con quello allestito dall'*organismo t*.

Le modeste reazioni crociate messe in luce dal Rees sono probabilmente da imputarsi a piccole quantità di *organismo t* introdotto con le amebe durante la vaccinazione o a frazioni di antigene amebico rimasto nell'antigene preparato dall'*organismo t*, non ben lavato.

Risultati identici ottenne, sostanzialmente, Tsuchiya (17) sperimentando con un batterio non specificato, associato allo stipite di *E. histolytica* usato.

Nelle nostre ricerche, riferite nella nota III (Magaudda-Borzì, 10), intese allo

studio della migliore tecnica di estrazione degli antigeni da *E. histolytica*, anche nei casi in cui si sottoposero i batteri a shock violenti non si ottennero mai antigeni batterici capaci di dare reazioni crociate con gli immunsieri amebici.

Sostanzialmente le ricerche fin qui condotte sull'argomento portano alla conclusione che gli antigeni batterici non sembrano esercitare alcuna influenza sulla positività della reazione fra antigeni e immunsieri amebici.

E', però, noto come sieri di soggetti « normali », di soggetti, cioè, che non hanno nella loro anamnesi prossima o remota una sindrome amebiasica, possano presentare reazione di fissazione del complemento positiva con gli antigeni amebici. Dai dati tratti dalla bibliografia sull'argomento (De Blasi e Magaudda-Borzì, 4) su 6610 sieri di soggetti « normali » presi in esame si ha, infatti, una positività del 3,7%.

Ci è sembrato, pertanto, utile chiarire se tali reazioni positive possano imputarsi all'influenza degli antigeni batterici, presenti in quantità più o meno notevole negli estratti amebici, o alla eventuale presenza di anticorpi antiamebici nel siero di individui apparentemente « normali ».

Per questo studio abbiamo usato antigeni allestiti da nove ceppi di *E. histolytica*, secondo le nostre tecniche più recenti (Magaudda-Borzì e Pennisi: 8, 10) atte a dare estratti notevolmente purificati e concentrati. Con la medesima tecnica fu preparato per ogni antigene amebico il relativo antigene batterico, allestito dalla flora batterica presente nella coltura del ceppo di *E. histolytica* usato.

Disponendo nella nostra collezione anche di un ceppo di *E. invadens* e di uno di *E. moshkovskii* abbiamo voluto eseguire le prove sierologiche in parallelo con gli antigeni preparati da questi due stipiti e dalle relative flore batteriche.

E' noto, infatti, come alcuni AA., abbiano cercato di usare, per la diagnosi sierologica dell'amebiasi umana, antigeni estratti da altre specie di amebe, come dalla *E. coli*, *E. invadens*, *E. moshkovskii* ed altre amebe a vita libera.

Fulton, Joiner e Price (7), usarono antigeni allestiti da ceppi di *E. histolytica* in coltura con colonbatteri, da *Entamoeba coli* (in coltura con colonbatteri) e da un *B. coli*. Gli antigeni vennero ottenuti mediante criolisi, ripetuta per tre volte (a temperatura non specificata), seguita da due lavaggi mediante centrifugazione; essi vennero, poi, conservati con varie metodiche (trattamento a 56° per 30'; aggiunta di formalina; filtrazione attraverso « gradocol » da 700 mm.; procedimenti misti). Tra le varie tecniche adottate fu trovata più adatta quella della filtrazione e successiva aggiunta di formalina; con gli antigeni, conservati in tal modo, vennero preparati immunsieri specifici ed eseguite prove crociate, i cui risultati sono riferiti nella tabella 2.

I dati riportati da Fulton misero chiaramente in evidenza la scarsa sensibilità degli antigeni preparati da *Entamoeba coli* e da *B. coli* verso il siero anti-*E. histolytica* e la sensibilità ancora minore degli antigeni allestiti da *E. histolytica* e da *B. coli* verso il siero anti-*Entamoeba coli*. Mentre l'antigene preparato da *E. histolytica* mantiene la sua scarsa reattività con il siero anti-*B. coli*. l'antigene allestito da *Entamoeba coli* reagisce notevolmente con detto siero.

Sherwood e Heatman (10), lavorando con amebe a vita libera quali la *Chaos chaos* e la *Flabellula citata*, hanno eseguito reazioni crociate con estratti alcoolici ed estratti salini. Mentre gli estratti alcoolici di *Chaos chaos* diedero risultati negativi con tutti gli immunsieri, quelli di *Flabellula citata* diedero una reazione, sia pur lieve, con il siero anti-*E. histolytica*.

TABELLA 2

Antisiero	Antigene	Diluizione dei sieri 1:									
		5	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560
E. histolytica	*E. histolytica*	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—
	F. coli	+	+	+	+	+	±	±	—		
	Bact. coli	+	+	+	±	—	—	—			
E. coli	*E. coli*	+	+	+	+	+	+	+	±	—	—
	E. histolytica	+	±	±	—	—	—	—	—		
	Bact. coli	+	±	—	—	—	—	—			
Bact. coli	*Bact. coli*	+	+	+	+	+	+	±	—	—	
	E. coli	+	+	+	+	+	±	+	—		
	E. histolytica	+	±	±	—	—	—	—	—	—	

Gli stessi AA., lavorando con vari ceppi di *E. histolytica*, osservarono la omogeneità delle caratteristiche antigeni in quattro degli stipiti presi in esame. Sulla base delle ricerche effettuate gli AA. conclusero per l'esistenza di un antigene lipoideo nell'*E. histolytica* e di due frazioni antigeni, una lipoidea ed una idrosolubile, nelle amebe a vita libera.

Leal ed Amaral (1, 2) eseguirono prove di agglutinazione con trofozoiti di *E histolytica* e con trofozoiti di *E. moshkovskii*. Essi saggiarono in tal modo tre sieri di portatori di *E. histolytica* e sette sieri di portatori di altre Entamoebae o di altri parassiti; in tutti si ebbe la classica agglutinazione seguita da lisi. Gli AA. furono portati ad affermare che non vi è alcuna relazione tra la agglutinazione di *E. moshkovskii* e la infezione con *E. histolytica*.

Menendez (13) eseguì esperienze con alcuni ceppi di *E. histolytica*, con un ceppo di *E. barreti* e con uno di *Balantidium coli*. Dopo aver standardizzato la flora batterica di tutti i ceppi in esame, provò numerose tecniche di estrazione dell'antigene (essiccamento sotto vuoto, soluzione della polvere ottenuta in liquido di Coca, sospensione acquosa, estratti alcoolici evaporati e ripresi con soluzione fisiologica) e con qualcuno dei suddetti estratti allestì immunsieri nei conigli. Sulla base dei risultati ottenuti dalle numerose prove sierologiche eseguite arrivò alle seguenti conclusioni: gli estratti alcoolici ripresi con soluzione fisiologica e le semplici sospensioni di *E. histolytica* e degli altri protozoi usati dimostrarono ottimo potere antigene; l'aggiunta del colesterolo non aumentò la sensibilità degli antigeni; nei conigli immunizzati fu possibile dimostrare la presenza di anticorpi fissanti il complemento, precipitanti e lisanti le amebe (antigene di *E. histolytica* e di *E. barreti)*; i sieri dei conigli immunizzati con *E. histolytica* e con *E. barreti*, pur presentando reazioni crociate, mostrarono, tuttavia, una maggiore sensibilità verso i rispettivi antigeni.

Nel complesso, mentre non venne, da un lato, dimostrata alcuna influenza della flora batterica nelle reazioni sierologiche tra antigeni amebici e immunsieri corrispondenti, non si poté evidenziare, dall'altro, una netta differenza sierologica tra i vari ceppi di *E. histolytica* e di *E. barreti* saggiati.

Goldman (8, 9) lavorando con un immunsiero anti-*E. histolytica* e con uno anti-*Entamoeba coli* coniugati con fluoresceina, arrivò alla conclusione che è possibile distinguere facilmente le due specie di amebe usando i relativi sieri coniugati, come pure è possibile, con tali sieri, distinguere dalle due specie summenzionate i ceppi di «*small race*» di *E. histolytica*, la *Dientamoeba fragilis*, l'*Endolimax nana* e l'*Entamoeba invadens*. Questa conclusione porterebbe a pensare che ogni specie abbia un suo antigene proprio o quanto meno una frazione specie-specifica. D'altro canto alcuni AA. (De Carneri, 5, 6, ecc.) ritengono che *E. moshkovskii* deve essere considerata una fase a vita libera di *E. histolytica*.

In tal modo la nostra ricerca può ritenersi volta a chiarire tre punti, a nostro parere, di notevole interesse nel campo della sierologia della amebiasi e cioè:

1) le eventuali influenze che gli antigeni batterici possono esplicare nelle reazioni sierologiche sugli antigeni amebici;

2) la presenza di eventuali anticorpi antiameba nel sangue della popolazione « normale »;

3) la esistenza di parentele antigeni tra vari ceppi di *E. histolytica* e tra *E. histolytica* ed altre specie di amebe quali: *E. invadens* ed *E. moshkovskii.*

MATERIALE E TECNICA

Gli antigeni, sia batterici che amebici, vennero allestiti secondo la tecnica descritta nella nota V (Magaudda-Borzì e Pennisi L., 5).

Al momento della raccolta si aspirava mediante pompa ad acqua la parte superiore del liquido contenuto nei matracci di coltura lasciando sul fondo, al di sopra della fase solida dell'uovo, uno strato di circa 1 cm. costituito dal sedimento amebico e da una piccola parte del liquido residuo.

Sia il sedimento che il liquido venivano raccolti e posti in unico recipiente, dove, mediante pipettazioni ripetute, il materiale era omogeneizzato e, successivamente, centrifugato a 1000 gpm per circa 10 min. Si ottenevano, in tal modo, due parti ben distinte e cioè:

a) un sedimento costituito da riso ed amebe

b) un supernatante costituito da liquido torbido ricco di batteri simbionti.

Ognuna di queste frazioni era sottoposta a trattamento particolare. Il sedimento amebico *(a)*, dopo ripetuti lavaggi con Locke, mediante centrifugazione (500 gpm per 20 minuti), veniva sottoposto al trattamento descritto nella nota V e, cioè, criolisi seguita da dialisi.

Il supernatante *(b)*, batterico veniva, a sua volta, centrifugato a 15.000 gpm per 30 min. ottenendo un sedimento costituito da soli batteri. Detto sedimento, lavato con Locke, mediante centrifugazioni ripetute, fino ad ottenere un supernatante limpido, era ripreso con Locke, portato ad un volume eguale a quello dell'antigene amebico e sottoposto allo stesso trattamento di criolisi. Successivamente il criolisato veniva centrifugato a 15.000 gpm per un'ora, ottenendo un supernatante limpido, privo di batteri, che rappresentava l'antigene batterico usato per la prova.

Da controlli batteriologici eseguiti con vari terreni ed a varie diluizioni risultò che il rapporto tra i batteri presenti nel sedimento amebico dopo lavaggio ed i batteri presenti nel mestruo da cui si estraeva, dopo lavaggio, l'antigene batterico era di 1 : 1000.

Per ogni ceppo di ameba in esame venne, pertanto, allestito un antigene amebico ed uno batterico, tarando l'antigene amebico a 500.000 UT/cc (*).

I ceppi di ameba presi in esame furono:

a) *E. histolytica:*

1) *ceppo F. 22:* proveniente dal N.I.H. di Bethesda, in coltura con: *organismo t, E. coli, Ps. aeruginosa* ed un *bacillo anaerobio gram-negativo;*

2) *ceppo Lero:* proveniente da Pisa, in coltura con: *Ps. aeruginosa, E. coli, Kl. aerogenes*;

3) *ceppo Santoni:* proveniente da Pisa, in coltura con: *Alc. foecalis, Staph. albus;*

4) *ceppo MT:* proveniente da Bogotà, in coltura con: *E. coli, Ps. aeruginosa* e *anaerobi saccarolitici;*

5) *ceppo Napoli:* proveniente da Palermo, in coltura con: *Ps. aeruginosa, E. coli* ed un *bacillo anaerobio gram-negativo;*

6) *ceppo Pai:* proveniente dai laboratori C. Erba, in coltura con: *E. coli, Ps. aeruginosa* ed *anaerobi saccarolitici*;

7) *ceppo Bar:* proveniente dai laboratori C. Erba, in coltura con: *E. coli, Ps. aeruginosa* ed *anaerobi saccarolitici;*

8) *ceppo Franca:* proveniente da Pisa, in coltura con: *E. coli, Ps. aeruginosa, Alc. foecalis* ed *anaerobi saccarolitici;*

(*) U. T. = unità trofozoitiche.

Tabella 3

Risultati complessivi ottenuti dalle prove di r.d.c. (Kolmer 1/5) su 1761 sieri di soggetti « normali » cimentati con antigeni amebici e batterici

Località e sesso	Totale sieri utilizzati	Sieri forniti potere anticomplementare	Totale sieri utilizzabili	Sieri negativi		Sieri positivi agli antigeni amebici				
				Antigeni batterici	Antigeni amebici	Solo Antigene polivalente *E. histolytica*	Antig. polivalente *E. histolytica* + o *E. invadens* + o *E. moshkovskii*	Solo antigene *E. invadens*	Solo antigene *E. moshkovskii*	Antigeni *E. invadens* + *E. moshkovskii*
Messina: m	723	56	667	667	587	22	26	15	11	6
f	297	35	262	262	232	6	10	10	4	—
Totale	1020	91	929	929	819	28	36	25	15	6
Cosenza: m	613	13	600	600	510	18	33	19	18	2
f	128	4	124	124	107	4	4	6	2	1
Totale	741	17	724	724	617	22	37	25	20	3
Totale generale:	1761	108	1653	1653	1436	50	73	50	35	9
Percentuali:										
Messina:	—	—	100%	100%	88,16%	3,01%	3,88%	2,69%	1,61%	0,65%
Cosenza:	—	—	100%	100%	85,23%	3,03%	5,11%	3,45%	2,76%	0,42%
Totale medio:	—	—	100%	100%	86,87%	3,02%	4,42%	3,02%	2,13%	0,54%

9) *ceppo EDM:* proveniente dall'Institut Pasteur di Parigi, in coltura con: *E. coli, Ps. aeruginosa, Alc. metalc., Alc. foecalis* ed *anaerobi saccarolitici.*

b) *E. invadens:* ceppo proveniente dal Tropen Institut di Amburgo, in coltura con: *E .coli, Ps. aeruginosa* ed *anaerobi saccarolitici.*

c) *E. moshkovskii:* ceppo proveniente dal Tropen Institut di Amburgo, in coltura con: *Ps. aeruginosa, Alc. foecalis* ed un *anaerobio gram-negativo.*

Vennero, pertanto, allestiti, con la tecnica suddescritta, 22 antigeni e precisamente 11 antigeni amebici ed 11 antigeni batterici.

Furono, inoltre, usati altri due antigeni costituiti da una miscela, in parti uguali, rispettivamente degli 11 antigeni amebici e degli 11 antigeni batterici (antigene amebico polivalente ed antigene batterico polivalente).

I sieri di soggetti « normali » ci furono forniti in parte dal laboratorio analisi del nostro Istituto (n. 1020) e in parte dal laboratorio provinciale di Cosenza (*) (n. 741). Furono, pertanto, esaminati in totale n. 1761 sieri di soggetti non amebiasici; ciascun siero era saggiato con i 22 antigeni singoli alle diluizioni di 1:7; 1:14; ed 1:21 e con i due antigeni polivalenti alla diluizione unica di 1:7.

Ciascun siero fu sottoposto contemporaneamente alla reazione Wassermann eseguita con cardiolipina e ATPS.

Nella valutazione dei risultati ottenuti con gli antigeni singoli si è preso come titolo del siero la diluizione che dava reazione intensamente positiva; la cifra 7, ad esempio, sta ad indicare la reazione del siero, diluito 1:7, valutabile con +++.

Per gli antigeni polivalenti, cimentati contro una unica diluizione di siero (1:7), si è, invece, tenuto conto della intensità della reazione espressa con +++ (reazione intensamente positiva) o con + (reazione debolmente positiva).

RISULTATI

Dai dati complessivi, riportati nella tabella 3, appare, anzitutto, evidente come dei 1761 sieri presi in esame 108 abbiano presentato potere anticomplementare alle diluizioni usate e come, pertanto, non sia stato possibile utilizzarli per le nostre prove.

Risulta, altresì, evidente come nessuno dei 1653 sieri, che non presentavano potere anticomplementare, abbia dato reazione positiva con l'antigene batterico polivalente o con i singoli undici antigeni batterici.

Per quanto riguarda gli antigeni amebici appare chiaro come si sia avuta reazione positiva in un numero non irrilevante di sieri « normali » con percentuale media di positività del 7,44% per gli antigeni allestiti da *E. histolytica* e del 7,09% per gli antigeni preparati da *E. invadens* e da *E. moshkovskii.* Non si sono registrate differenze apprezzabili nelle percentuali di positività tra i sieri raccolti a Messina e quelli provenienti da Cosenza.

Nella presente indagine la percentuale media di sieri positiva agli antigeni allestiti da *E. histolytica,* in un campione medio di popolazione normale, risulta, pertanto, quasi doppio di quella rilevata da altri AA. che sottoponendo ad esame, nel complesso, 6670 sieri di individui sicuramente non esposti alla infezione amebica, trovarono una positività del 3,70%.

Nelle nostre indagini abbiamo ottenuto percentuali di positività pres-

---

(*) Un vivo ringraziamento al dott. F. Serra, Direttore della Sezione Medica del Laboratorio Provinciale di Igiene e Profilassi di Cosenza, per avere gentilmente collaborato alla nostra indagine, fornendoci i sieri e le notizie relative.

Tabella 4

*Dati relativi al sesso, all'età, alla professione e al titolo di anticorpi anti-*E.histolytica *dei 64 soggetti «normali» del messinese*

N°	Sesso	Anni	Professione	Antigene amebico polivalente	Antigeni usati per la r.d.c. (Kolmer 1/5)											
					Antigeni preparati dai singoli stipiti di *E. histolytica*									*E. invadens*	*E. moshkonskii*	Wassermann
					Lero	Napoli	Santoni	Pai	F22	BAR	Franca	MT	EDM			
1	m	31	studente	+++	14	14	—	14	—	—	21	7	—	—	—	—
2	m	28	studente	+++	7	—	7	7	14	14	—	—	—	—	—	—
3	m	30	commerciante	+++	7	21	7	7	—	7	7	7	—	14	—	—
4	m	40	proprietario	+++	7	7	7	—	7	7	7	—	—	—	7	+++
5	m	40	cameriere	+++	7	—	14	21	21	—	—	—	—	14	7	—
6	m	68	impiegato	+++	7	—	—	—	14	7	—	7	7	14	21	—
7	m	36	insegnante	+++	7	—	7	7	—	—	—	—	7	14	—	—
8	m	34	commerciante	+	7	7	—	—	14	—	—	—	—	—	—	—
9	m	22	bracciante	+	7	—	7	—	—	14	—	—	—	—	—	—
10	m	28	rappresentante	+	7	—	—	7	—	7	—	—	—	—	—	—
11	m	33	alimentarista	+	7	—	—	7	—	—	—	7	14	—	—	—
12	m	44	industriale	+	14	—	7	—	7	7	—	—	—	14	—	—
13	m	28	bracciante	+	7	—	14	—	—	—	—	7	—	—	14	—
14	m	65	macchinista	+	7	—	7	—	—	—	7	—	14	7	—	—
15	m	29	insegnante	+	7	—	—	7	—	—	—	—	7	14	7	—
16	m	42	insegnante	+	7	14	14	7	—	—	—	—	—	—	—	—
17	m	37	alimentarista	+	14	—	—	—	14	7	—	—	7	14	7	—
18	m	27	macellaio	+	7	—	—	—	7	14	—	—	—	7	7	—
19	m	28	studente	+	14	—	—	14	—	—	14	—	—	14	—	—
20	m	23	infermiere	+	7	14	—	14	7	—	7	—	7	—	14	—
21	m	28	bracciante	+	7	7	14	7	—	—	—	—	7	—	—	—
22	m	37	commerciante	+	—	7	—	7	—	14	—	—	—	—	—	—
23	m	34	cameriere	+	7	—	7	7	—	—	—	—	14	—	—	—

24	m	29	studente	+	7	—	—	—	—	—	21	—	7	7	—	—	—	—	—
25	m	30	alimentarista	+	7	—	7	—	7	7	7	14	—	14	—	—	—	—	—
26	m	47	impiegato	+	7	—	7	—	—	—	—	7	—	—	—	—	—	+++	—
27	m	27	diplomato	+	7	—	—	—	14	7	—	—	7	7	—	—	—	—	—
28	f	39	casalinga	+++	7	—	—	21	7	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—
29	f	20	studentessa	+++	7	7	—	—	—	—	7	7	14	14	7	—	—	—	—
30	f	46	cameriera	+++	7	—	—	—	14	14	—	7	7	7	—	—	—	—	—
31	f	25	casalinga	+++	—	7	7	7	—	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—
32	f	46	insegnante	+	—	—	7	—	—	—	7	—	7	—	—	—	—	—	—
33	f	24	casalinga	+	—	—	14	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
34	f	33	casalinga	+	—	7	7	21	—	—	—	—	—	7	—	—	—	—	—
35	f	20	studentessa	+	—	—	7	14	14	21	7	21	—	7	—	—	—	—	—
36	m	26	studente	+++	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
37	m	26	studente	+++	—	7	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38	m	50	autista	+++	—	14	14	—	14	14	14	21	—	—	—	—	—	—	—
39	m	23	infermiere	+++	—	7	—	—	—	—	—	7	7	—	—	—	—	—	—
40	m	34	ingegnere	+++	—	7	—	—	—	—	7	—	14	14	7	—	—	—	—
41	m	27	macellaio	+++	—	14	—	—	7	7	7	—	—	14	—	—	—	—	—
42	m	28	studente	+++	—	7	—	7	7	7	—	7	—	7	7	—	—	—	—
43	m	24	rappresentante	+++	—	7	7	7	—	14	—	7	—	14	—	—	—	—	—
44	m	33	alimentarista	+	—	7	7	7	7	—	7	—	14	—	—	—	—	—	—
45	m	49	diplomato	+	—	14	7	—	—	—	7	—	7	—	—	—	—	—	—
46	m	46	esercente	+	—	7	—	—	7	14	7	—	—	—	—	—	—	—	—
47	m	28	bracciante	+	—	7	7	—	—	—	—	7	14	—	—	—	—	—	—
48	m	26	autista	+	—	7	—	—	7	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—
49	m	22	impiegato	+	—	7	—	7	7	7	—	7	—	—	—	—	—	—	—
50	m	35	impiegato	+	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—	—	—
51	f	56	cameriera	+	—	7	—	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
52	f	35	esercente	+	—	7	—	—	7	—	14	—	—	—	7	—	—	—	—
53	f	23	casalinga	+	—	7	—	—	14	—	—	7	7	7	7	—	—	—	—
54	f	40	insegnante	+	—	7	14	—	—	7	—	—	—	7	—	—	—	—	—
55	m	23	barista	+++	—	—	7	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
56	m	19	dolciere	+	—	—	7	7	7	7	7	—	—	7	—	—	—	—	—
57	f	47	esercente	+++	—	—	14	14	—	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—
58	f	48	cuoca	+	—	—	7	—	—	14	7	—	—	—	7	—	—	—	—
59	m	28	guardia PS	+	—	—	—	7	—	14	—	—	7	7	7	—	—	—	—
60	m	31	cameriere	+	—	—	—	—	7	—	7	7	—	7	—	—	—	—	—
61	m	29	insegnante	+	—	—	—	—	—	7	—	—	—	14	7	—	—	—	—
62	m	34	commerciante	+	—	—	—	—	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—
63	f	33	laureata	+++	—	—	—	—	—	—	7	14	—	14	—	—	—	—	—
64	m	40	impiegato	+	—	—	—	—	—	—	—	14	7	7	—	—	—	—	—

Tabella 5

*Dati relativi al sesso, all'età, alla professione e al titolo di anticorpi anti-*E.histolytica *dei 59 soggetti «normali» del cosentino*

N°	Sesso	Anni	Professione	Antigene amebico polivalente	Antigeni usati per la r.d.c. (Kolmer 1/5)											
					Antigeni preparati dai singoli stipiti di *E. histolytica*									*E. invadens*	*E. moshkovskii*	Wassermann
					F22	Lero	Pai	Santoni	MT	EDM	Bar	Franca	Napoli			
1	m	. .	615	+++	21	—	21	21	—	—	—	—	7	—	—	—
2	m	34	impiegato	+++	7	21	—	—	7	—	—	—	—	14	7	—
3	m	21	impiegato	+++	7	—	7	7	7	—	7	7	7	7	—	—
4	m	27	medico	+++	21	14	14	7	14	—	—	—	—	21	7	—
5	m	29	autista	+++	14	21	7	14	7	—	—	7	—	14	7	—
6	m	40	impiegato	+++	7	21	—	—	—	—	—	7	—	7	—	—
7	m	25	elettrotecnico	+++	21	7	14	14	14	14	—	14	—	21	14	+++
8	m	56	pensionato	+++	21	21	7	—	14	—	14	7	—	21	7	—
9	m	31	impiegato	+++	21	7	7	7	14	—	7	—	—	7	—	—
10	m	38	impiegato	+++	14	7	—	—	—	—	—	—	—	14	7	—
11	m	69	autista	+++	21	14	21	14	—	14	14	—	14	7	—	+++
12	m	32	avvocato	+++	14	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—
13	m	25	veterinario	+++	7	7	—	7	21	—	14	—	—	7	14	—
14	m	30	impiegato	+	21	21	21	21	21	—	21	14	—	14	14	—
15	m	21	emigrante	+	14	7	7	7	—	—	—	—	—	—	—	—
16	m	22	emigrante	+	21	21	—	—	—	—	—	7	—	21	—	—
17	m	47	industriale	+	7	—	—	—	—	—	—	—	—	14	—	—
18	m	25	carabiniere	+	7	—	7	7	—	—	—	—	—	7	—	—
19	m	47	guardia	+	7	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—
20	m	22	militare	+	7	7	—	—	7	—	—	—	—	7	7	—

21	m	59	commerciante	+	14	14	14	7	7	—	7	7	—	7	—	—
22	m	27	impiegato	+	21	—	21	—	—	—	—	14	—	—	—	—
23	m	40	insegnante	+	7	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—
24	m	23	meccanico	+	7	7	—	7	—	—	7	7	—	—	—	+++
25	m	25	insegnante	+	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26	m	20	meccanico	+	7	7	—	7	—	—	—	—	—	7	—	—
27	m	61	autista	+	7	—	7	7	—	—	—	—	7	7	7	—
28	m	27	medico	+	21	14	—	7	—	—	—	—	—	—	7	—
29	m	34	ingegnere	+	14	—	14	21	7	—	7	—	7	—	—	—
30	m	56	agricoltore	+	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31	f	43	insegnante	+++	21	14	14	—	—	7	7	—	7	7	7	+++
32	f	34	insegnante	+++	7	—	—	—	14	—	21	—	—	7	7	—
33	f	21	studentessa	+	21	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
34	f	20	alimentarista	+	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35	m	18	emigrante	+++	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
36	m	25	operaio	+++	—	21	—	21	14	14	21	14	—	14	—	—
37	m	47	. . . .	+++	—	21	21	7	14	21	14	14	21	21	14	—
38	m	41	proprietario	+	—	14	14	—	—	—	7	—	—	7	—	—
39	m	44	salariato	+	—	21	—	—	7	—	—	—	7	7	7	+++
40	m	53	alimentarista	+	—	21	—	—	—	—	—	—	—	14	—	—
41	m	32	spedizioniere	+	—	14	—	7	—	14	—	—	—	7	—	—
42	m	23	meccanico	+	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
43	f	34	insegnante	+	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
44	f	31	insegnante	+	—	21	—	7	—	—	—	—	—	7	—	+++
45	f	28	insegnante	+	—	7	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—
46	m	40	falegname	+++	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
47	m	37	operaio	+++	—	—	7	—	—	—	—	—	—	7	—	—
48	m	23	meccanico	+	—	—	7	—	—	—	—	—	—	14	—	—
49	m	62	proprietario	+	—	—	7	—	—	—	—	—	—	14	—	—
50	f	22	negoziante	+	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
51	m	20	emigrante	+++	—	—	—	7	—	—	—	—	7	—	—	—
52	m	43	autista	+	—	—	—	7	7	7	—	—	—	7	—	—
53	m	27	contadino	+	—	—	—	7	7	—	7	—	—	—	—	—
54	m	23	emigrante	+	—	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—	—
55	m	29	agricoltore	+	—	—	—	7	—	—	7	—	—	—	—	—
56	m	21	agricoltore	+++	—	—	—	—	14	14	—	—	—	—	—	—
57	m	18	emigrante	+	—	—	—	—	7	—	—	—	—	—	—	—
58	m	38	impiegato	+	—	—	—	—	—	7	—	—	7	7	—	—
59	m	39	insegnante	+	—	—	—	—	—	—	—	—	7	—	—	—

soché identiche con gli antigeni preparati da *E. invadens* e da *E. moshkovskii*.

Nella tabella 4 sono riportati i dati relativi alla età, al sesso ed alla professione dei 64 soggetti messinesi i cui sieri reagirono positivamente con gli antigeni allestiti da *E. histolytica;* nella tabella 5 gli stessi dati si riferiscono ai 59 soggetti cosentini.

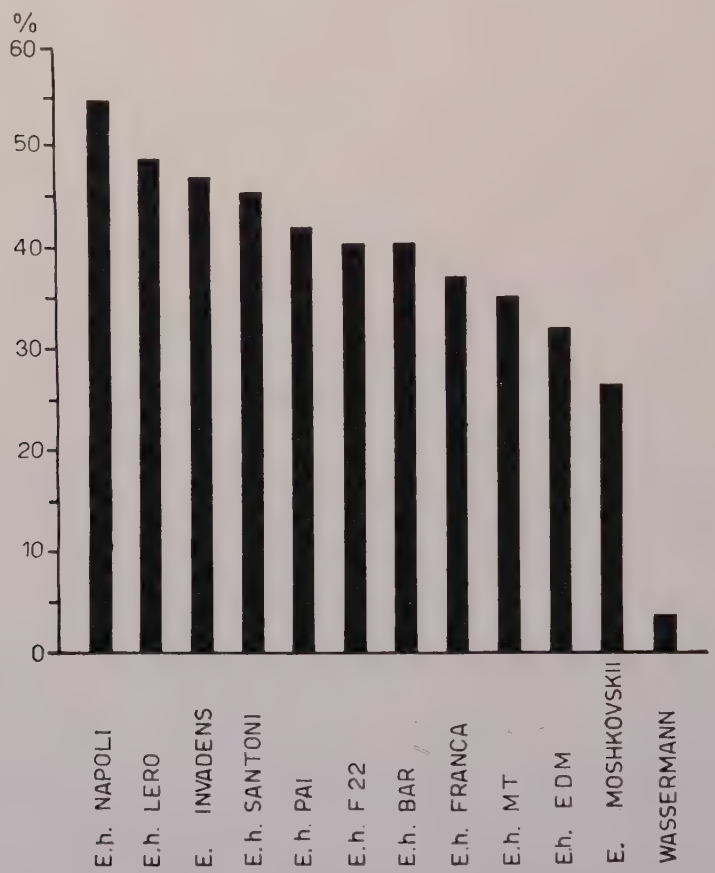


Fig. 1 - Frequenze percentuali di positività dei vari antigeni amebici nei 59 sieri, con anticorpi anti-*E.histolytica*, prelevati a Cosenza.

Nelle tabelle 6 e 7 vengono riportati i dati relativi all'età, al sesso ed alla professione rispettivamente dei 46 soggetti messinesi e dei 48 soggetti cosentini i cui sieri reagirono positivamente con gli antigeni allestiti da *E. invadens* e da *E. moshkovskii*.

Tra i sieri prelevati nel messinese hanno mostrato maggiore positività gli antigeni allestiti dai ceppi di *E. histolytica*: *Napoli, Lero* e *Santoni*;

Tabella 6

*Dati relativi al sesso, all'età, alla professione e al titolo di anticorpi anti-*E.invadens *e* E.moshkovskii *dei 46 soggetti «normali» del messinese*

N°	Sesso	Anni	Professione	Antigeni usati per la r.d c. (Kolmer 1/5)			
				E. invadens	*E. moshkovskii*	Polivalente *E. histolytica*	Cardiolipina A.T.P.S.
1	m	29	alimentarista	7	—	—	—
2	m	34	impiegato	21	—	—	—
3	m	40	impiegato	21	—	—	—
4	m	32	esercente	7	—	—	—
5	m	32	insegnante	7	—	—	—
6	m	50	esercente	7	—	—	—
7	m	21	studente	21	—	—	—
8	m	50	insegnante	21	—	—	—
9	m	54	banconista	21	—	—	—
10	m	27	autista	7	—	—	—
11	m	19	infermiere	7	—	—	—
12	m	21	alimentarista	14	—	—	—
13	m	30	banconista	7	—	—	—
14	m	30	bracciante	7	—	—	—
15	m	25	infermiere	7	—	—	—
16	f	41	cuoca	21	—	—	—
17	f	33	esercente	21	—	—	—
18	f	48	alimentarista	21	—	—	—
19	f	27	alimentarista	14	—	—	—
20	f	27	insegnante	7	—	—	—
21	f	55	alimentarista	14	—	—	—
22	f	20	alimentarista	7	—	—	—
23	f	20	casalinga	7	—	—	—
24	f	18	studentessa	7	—	—	—
25	f	46	casalinga		—	—	—
26	m	31	esercente	—	7	—	—
27	m	52	cuoco	—	14	—	—
28	m	34	esercente	—	7	—	—
29	m	28	pasticciere	—	7	—	—
30	m	34	panettiere	—	7	—	—
31	m	26	manovale	—	7	—	—
32	m	60	ottico	—	7	—	—
33	m	29	avvocato	—	14	—	—
34	m	29	infermiere	—	14	—	—
35	m	29	tappezziere	—	14	—	—
36	m	30	commerciante	—	7	—	—
37	f	22	insegnante	—	14	—	—
38	f	21	casalinga	—	21	—	—
39	f	49	alimentarista	—	7	—	+++
40	f	24	casalinga	—	7	—	—
41	m	26	barista	7	14	—	—
42	m	35	commerciante	21	7	—	—
43	m	27	insegnante	7	7	—	—
44	m	50	ingegnere	21	14	—	—
45	m	31	manovale	7	14	—	—
46	m	27	insegnante	7	14	—	—

TABELLA 7

*Dati relativi al sesso, all'età, alla professione e al titolo di anticorpi anti-*E.invadens *e* E.moshkovskii *dei 48 soggetti « normali » del cosentino*

N°	Sesso	Anni	Professione	Antigeni usati per la r.d c. (Kolmer 1/5)			
				E. invadens	*E. moshkovskii*	Polivalente *E. histolytica*	Cardiolipina A.T.P.S.
1	m	43	impiegato	21	—	—	—
2	m	22	studente	21	—	—	—
3	m	24	impiegato	14	—	—	—
4	m	41	impiegato	14	—	—	—
5	m	40	medico	14	—	—	—
6	m	36	commerciante	14	—	—	—
7	m	28	commerciante	7	—	—	—
8	m	19	geometra	7	—	—	—
9	m	26	medico	7	—	—	—
10	m	28	studente	7	—	—	—
11	m	11	studente	7	—	—	—
12	m	46	orologiaio	7	—	—	—
13	m	33	commerciante	7		—	—
14	m	27	medico	7	—	—	—
15	m	48	autista	7	—	—	—
16	m	44	commerciante	7	—	—	—
17	m	32	impiegato	7	—	—	—
18	m	31	pensionato	7	—	—	—
19	m	39	bidello	7	—	—	—
20	f	29	insegnante	21	—	—	—
21	f	22	insegnante	21	—	—	—
22	f	25	casalinga	14	—	—	—
23	f	32	insegnante	7	—	—	—
24	f	26	insegnante	7	—	—	—
25	f	54	ostetrica	7	—	—	—
26	m	44	calciatore	—	21	—	—
27	m	38	agricoltore	—	14	—	—
28	m	53	carabiniere	—	14	—	—
29	m	26	veterinario	—	7	—	—
30	m	20	geometra	—	7	—	—
31	m	20	ragioniere	—	7	—	—
32	m	50	commerciante	—	7	—	—
33	m	30	panificatore	—	7	—	—
34	m	35	autista	—	7	—	—
35	m	21	operaio	—	7	—	—
36	m	25	autista	—	7	—	—
37	m	59	impiegato	—	7	—	—
38	m	27	manovale	—	7	—	—
39	m	18	meccanico	—	7	—	—
40	m	48	autista	—	7	—	—
41	m	45	casalinga	—	7	—	—
42	m	50	fruttivendolo	—	7	—	—
43	m	30	commerciante	—	7	—	—
44	f	24	operia	—	21	—	—
45	f	32	insegnante	—	7	—	—
46	m	52	casalinga	14	7	—	—
47	m	31	pensionato	7	7	—	—
48	f	30	impiegata	7	21	—	—

tra i sieri provenienti dal cosentino hanno dato maggior numero di reazioni positive gli antigeni preparati dai ceppi *F* 22, *Lero* e *Pai*.

Nel complesso sembra che il ceppo *Lero* dia la maggior percentuale di frequenza media di positività mentre il ceppo *EDM* occupa l'ultimo posto.

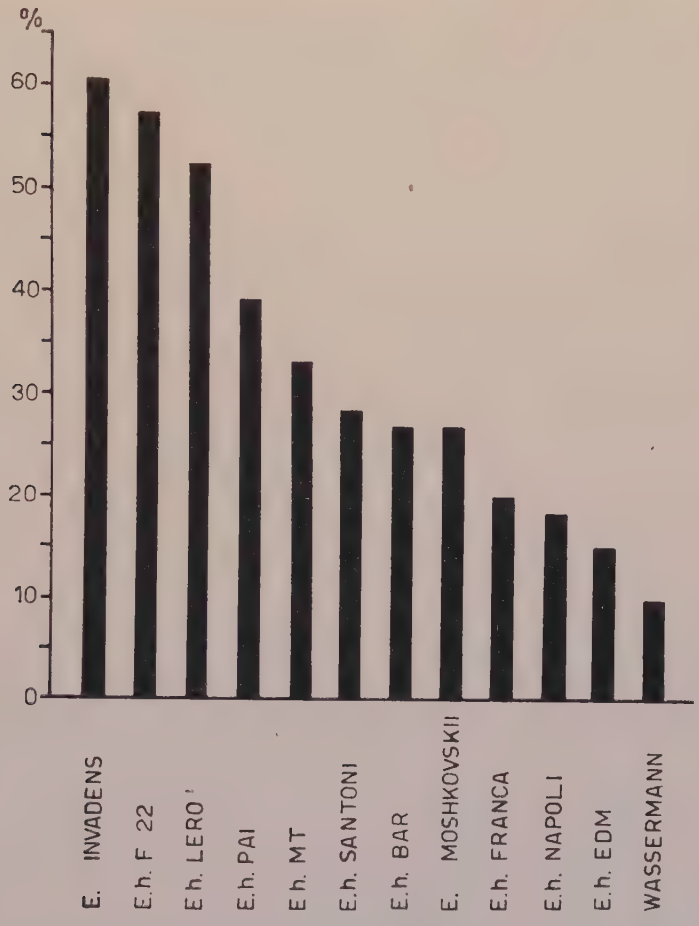


Fig. 2 - Frequenze percentuali di positività dei vari antigeni amebici nei 64 sieri, con anticorpi anti-*E.histolytica*, prelevati a Messina.

Va particolarmente sottolineata la perfetta corrispondenza tra positività dei sieri con uno o più degli 11 antigeni preparati da *E. histolytica* e con l'antigene amebico polivalente. Alla reazione positiva, anche con un solo +, con l'antigene amebico polivalente ha corrisposto sempre una reazione nettamente positiva con uno o più degli 11 antigeni amebici usati; alla reazione negativa con l'antigene polivalente ha sempre corrisposto una reazione negativa con gli antigeni singoli.

L'antigene allestito da *E. invadens* ha registrato positività altissima; esso ha rivelato, infatti, una positività superiore, singolarmente preso, a quella dei vari antigeni preparati da *E. histolytica*.

Risultati molto modesti si sono avuti, invece, con l'antigene allestito da *E. moshkovskii*.

Dall'esame dei risultati riportati nelle tabelle 4 e 5 è possibile, inoltre, osservare un fenomeno di notevole interesse; gli undici antigeni amebici mostrano una diversa reattività con i sieri positivi, nel senso che mentre alcuni danno reazioni intensamente positive altri non reagiscono affatto con lo stesso siero.

La percentuale delle frequenze medie di positività dei vari antigeni amebici risulta dai grafici delle figure 1 e 2.

Considerazioni e conclusioni

Dall'insieme dei risultati ottenuti è possibile trarre le seguenti considerazioni:

1) Gli antigeni batterici, presenti in quantità più o meno notevole negli estratti amebici, non sembrano esercitare alcuna influenza, nelle reazioni sierologiche, sugli antigeni allestiti da *E. histolytica*.

Nessuno dei 1653 sieri di soggetti « normali » saggiati ha reagito, infatti, con gli antigeni batterici, mentre il 7,44% ha dato reazione positiva con gli antigeni preparati da vari ceppi di *E. histolytica*.

2) Esiste nella popolazione « normale » una percentuale di individui dotata di anticorpi anti-*E. histolytica* (7,44%) come pure di anticorpi anti-*E. invadens* e anti-*E. moshkovskii* (7,09%). Esclusa la interferenza esercitata dalla eventuale presenza di antigeni batterici e ritenuta del tutto improbabile quella esplicata da antigeni componenti il terreno colturale (eguale per tutti i ceppi usati), si deve ammettere che gli anticorpi antiamebici siano specifici e che si possano trovare, al pari di altri anticorpi cosiddetti « naturali », nel siero di soggetti « normali ».

3) L'uso di antigeni allesti da vari ceppi di *E. histolytica* avrebbe messo in evidenza una diversa struttura antigene degli stipiti presi in esame.

Ogni siero di soggetto « normale », risultato positivo, non ha, infatti, reagito con tutti i nove ceppi saggiati ma solo con alcuni di essi, senza alcuna relazione con la provenienza territoriale.

4) E', pertanto, consigliabile usare, nella sierologia dell'amebiasi, il maggior numero di ceppi di *E. histolytica* o, meglio ancora, antigeni polivalenti, costituiti, cioè, da vari stipiti di diversa provenienza.

Non vi è, infatti, dubbio che la percentuale più elevata di positività da noi riscontrata nei sieri « normali » rispetto a quella ottenuta da altri

AA. sia da ascrivere al maggior numero di ceppi nelle nostre prove sierologiche.

Circa l'origine degli anticorpi « normali » antiamebici non è certamente facile pronunciarsi; il problema s'inquadra in quello più vasto degli anticorpi « naturali » in generale. L'ipotesi, da molti in altri campi accettata, che gli anticorpi antiamebici nel soggetto « normale » possano essere l'indice di una pregressa infezione, passata inosservata o comunque non diagnosticata, sarebbe, nel nostro caso, molto suggestiva, tenuto conto che nelle zone nelle quali è stata fatta l'indagine sierologica l'amebiasi era, ed è, in parte, tuttora, malattia molto diffusa. Non si può, però, dimenticare che il movimento anticorpale, svelato con gli antigeni sin oggi a nostra disposizione, risulta, nel soggetto malato, in genere, modesto se non addirittura assente, tale, comunque, da difficilmente convincerci come esso possa ancora rimanere, ed a titoli anche non indifferenti, a seguito di una infezione pregressa.

Si potrebbe anche pensare ad una parentela antigene tra *E. histolytica* ed altre amebe, quali *E. invadens* ed *E. moshkovskii*: i risultati ottenuti (percentuale di positività dei sieri « normali » del 7,09%), anche se non definitivi, potrebbero portare ad ammettere una percentuale antigene generica, riferibile, come ben s'intende, agli antigeni totali idrosolubili da noi usati. L'antigene in comune potrebbe, con ogni probabilità, essere separato lavorando con eventuali frazioni antigeni purificate, così come prospettato da Sherwood ed Heatmann.

Non sarebbe, poi, assurdo pensare ad eventuali parentele antigeni tra amebe, sia parassite che a vita libera, ed altri germi più o meno largamente diffusi nell'ambiente esterno e con facilità di accesso nell'organismo umano; non mancano esempi di tal genere tra specie microbiche non aventi, anche, alcuna affinità tra loro.

Allo stato degli atti non è certamente possibile sostenere alcuna delle suddette ipotesi; a noi basta, per ora, averle prospettate riservandoci di poterle suffragare con adeguate prove sperimentali, eseguite con antigeni amebici sempre più purificati o addirittura con le eventuali frazioni antigeni estratte da *E. histolytica* e da altre amebe.

AMOEBIASIS SEROLOGY. VI. A STUDY ON THE INFLUENCE OF BACTERIAL ANTIGENS, IN C.F. TESTS, ON NORMAL SERA TESTED WITH CRIOLISED SAMPLES FROM VARIOUS ENTAMOEBAE (*E.HISTOLYTICA, E.INVADENS, E.MOSHKOVSKII*) AND FROM THEIR RESPECTIVE ASSOCIATED BACTERIAL FLORA

Complement fixation tests, using Kolmer's technique (1/5) were performed on 1653 sera from normal subjects with amoebic antigens (obtained from nine strains of *Entamoeba histolytica*, one strain of *E.invadens* and one of *E.moshkovskii*) and with eleven bacterial antigens derived from the relevant associated bacterial flora.

The results showed that the bacterial antigens had no effect on the specificity and sensitivity of the amoebic antigens, and also that a certain proportion (7.44%) of

the normal population has, what might be called « natural », anti-amoebic antigens.

It is also thought probable that there is heterogenicity of the antigenic structure in clones of *E.histolytica* which emphasises the necessity of using polyvalent amoebic antigens without taking account of the territorial origins of the strains.

Finally the problem of the origin of the « natural » anti-amoebic antibodies is discussed and various hypotesis are suggested which require further experimental investigation.

BIBLIOGRAFIA

1) AMARAL A. D., LEAL R. A. (1949): *Rev. Paulista de Medicina, 34* 43.
2) AMARAL A. D., LEAL R. A. (1952): *Ac. Fac. Hyg. S. P. Univ. San Paulo, 6,* 1.
3) DE BLASI R., MAGAUDDA-BORZI' L. (1958): *Riv. Parass., 19,* 267.
4) DE BLASI R., MAGAUDDA-BORZI' L. (1958): *Riv. Parass., 19,* 278.
5) DE CARNERI I. (1957): *Riv. Parass., 18,* 133.
6) DE CARNERI I. (1958): *Riv. Parass., 19,* 81.
7) FULTON J. D., JOYNER L. P., PRICE I. N. O. (1951): *J. Trop. Med. Hyg., 54,* 27.
8) GOLDMANN M. (1953): *Amer. J. of. Hyg., 58,* 319.
9) GOLDMANN M. (1954): *Amer. J. of Hyg., 59,* 318.
10) MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1958): *Arch. It. Sc. Med. Trop. Parass. 39,* 616.
11) MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1958): *Atti del VI Congresso Sez. Reg. Sic. dell'A.I.I.S.P., Ragusa 14-15 novembre 1958.*
12) MAGAUDDA-BORZI' L., PENNISI L. (1960): *Parassitologia, 2,* 96.
13) MENENDEZ P. E. (1932): *Amer. J. of Hyg., 15,* 785.
14) REES C. W., BOZICEVICH J., REARDON L. V., JONES F. (1942): *Amer. J. Trop. Med., 22,* 581.
15) SCHUBERT J. H., MAY M. C. (1952): *J. Lab. Clin. Med., 40,* 78.
16) SHERWOOD N. P., HEATMANN L. (1932): *Amer. J. of Hyg., 16,* 124.
17) TSUCHIYA H. (1934): *J. Lab. Clin. Med., 19,* 495.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXI - N. 4 - Dicembre 1960

OBSERVATIONS ON THE CYTOLOGY AND MORPHOLOGY OF THE MAMMALIAN MALARIA PARASITES. I. A PROCESS OF APPARENT PLASMOTOMY IN THE PREERYTHROCYTIC PHASE OF *LAVERANIA FALCIPARUM*. (*)

R. S. Bray (**)

A process of division occurs in the late stages of the preerythrocytic phase of *L. falciparum* which consists of cytoplasmic fission into numerous islands. These islands multiply until thousands of double-nucleated islands are formed. This process is defined as aposchizogony and it is concluded that it appears in the tissue phase of *L. falciparum, P. inui, P. knowlesi* and *P. gonderi*. The terms schizogony and plasmotomy are redefined in the light of this knowledge.

I. Introduction

Shortt, Fairley, Covell, Shute and Garnham (1951) and Jeffery, Wolcott, Young and Williams (1952) when describing the pre-erythrocytic schizonts of *Laverania* (= *Plasmodium*) *falciparum* noted the formation of cords and islands of protoplasm in the nearly mature forms. Shortt et al. (1951) described this process as: « a tendency... for the cytoplasm to separate into regional areas resembling cytomeres. These pseudocytomeres vary in shape from spherical to elongated and each contains a considerable, though varying, number of nuclei ». Jeffery et al. (1952) state: « There is an increase in complexity of the vacuoles and an apparent formation of cords and islands of cytoplasm (the « pseudocytomeres » of Shortt, et al. 1951); it is from these that the merozoites form ».

Garnham (1951) observing a similar process in the pre-erythrocytic schizonts of *Plasmodium inui* described the islands as cytomeres and concluded that their formation is an attempt to increase cytoplasmic

---

(*) This investigation was supported by a grant E2178 (RI) from the National Institutes of Health, U.S.P.H.S.

(**) *Liberian Institute of the American Foundation for Tropical Medicine, Harbel, Liberia.*

(***) The word « plasmodium » as used throughout this text has its biological connotation that is to describe a single mass of protozoal cytoplasm containing more than one nucleus.

surface area for respiration and that the process is probably necessary in the maturation phase of older tissue schizonts in all species of mammalian malaria parasites. Garnham (1951) concluded that: « the structures should be regarded as pseudo-cytomeres », presumably in deference to the rigid view that cytomeres are processes which when first formed contain only one nucleus and from this grow as separate plasmodia or syncitia. Garnham, Lainson and Cooper (1958) reported a similar process in the pre-erythrocytic schizonts of *P. gonderi.*

In the case of *P. knowlesi,* Garnham, Lainson and Cooper (1957) were able to follow this process in rather more detail but in this case separation into islands was not complete in some schizonts seen and then at a later stage, although separation was complete, there was not the definition of outline and distinct character of the islands seen in *L. falciparum, P. inui* and *P. gonderi.*

Bray (1957) preferred to term these processes « meroblasts » but this ignores another rigid view in the study of protozoology: that the suffix « blast » pre-defines the formation of a cyst by the process, e.g. from sporoblast to sporocyst. The classic descriptions of the oöcysts of *L. falciparum* also contain references to this process usually involving the term « anastomosis of septa » to describe the formation of cords about vacuoles and Wenyon (1926) specifically rejects the term sporoblast because the masses form: « more the results of accident than of a definite process of development ».

There arises the doubt from this information that the process of schizogony, *sensu stricto,* is involved at all and whether in fact the division of these parasites is not a process of plasmotomy or indeed if both are not involved. The question is therefore if more or less simultaneous production of uninucleate masses from a plasmodium occurs, if purely progressive cytoplasmic division of a multinucleate plasmodium occurs, if both occur or finally if these processes are so continuous that real differentiation into such rigid categories is illusionary.

Sufficient material showing these growth processes in *L. falciparum* has been accumulated to answer some of these questions and to define further the morphology of the older pre-erythrocytic forms.

II. Material and methods

The hosts involved have been the chimpanzee *Pan troglodytes verus* and *Anopheles gambiae* and the strains of *L. falciparum* employed have been obtained locally in Liberia.

The methods used are those of Bray (1958) and Bray, Burgess, Fox and Miller (1959). Some of the material studied here was from the control

chimpanzee as described by Bray et al. (1959), that is liver material taken 6 days after sporozoite inoculation. The remainder of the material was liver taken from a chimpanzee 6 days and 3 hours after sporozoite inoculation.

All liver material was fixed in Carnoy's fluid, sectioned and stained by the Giemsa stain, colophonium differentiation method of Shortt and Cooper (1948); by Giemsa stain, acetic acid differentiation and acetone dehydration; by Giemsa stain and colophonium differentiation following N hydrochloric acid hydrolysis after the method of Wolcott (1952); by the Feulgen-light green method; by Mayer's haemalum, and by Heidenhain's iron haematoxylin method. Some material was also examined unstained in immersion oil by phase contrast microscopy.

III. RESULTS

The process involved in the final growth stages of the preerythrocytic forms of *L. falciparum* in the liver of the chimpanzee is best shown in the accompanying untouched colour photomicrographs.

The first activity commences from the classical homogenous plasmodium consisting of a homogenous cytoplasm studded at random with nuclei (Fig. 1). A large vacuole of irregular outline forms in the central area of the plasmodium so that a single thick round cord is formed. The nuclei move to the periphery of the cytoplasmic ring. The nuclei are very numerous and form an almost solid line delineating the peripheries of this cord while a few nuclei remain distributed in the central area of the cord (Figs. 2, 3). A few further vacuoles commence to appear though not in great numbers and complexity. This further vacuolation gives rise to several major septa in a continuous anastomosis. This process appears to be a spontaneous vacuolation of formerly solid protoplasm rather than the active pushing out of septa into the original vacuole to enclose smaller spaces (Fig. 4).

The next process is the appearance of clefts in these large septa which commence to pinch off large masses of the septa (Fig. 5). When the separation is complete the parasites consist of large multinucleate islands each a plasmodium having its own periplast, containing several hundreds of nuclei and still arranged in the former septa pattern (Fig. 6). During these processes the nuclei continue to divide and increase and always move to any surfaces newly formed by the cytoplasmic changes.

The position then is reached of a parasite which now consists of some 10 to 20 large separated islands of protoplasm each with a peripheral nuclei distribution similar to the last stages of a typical cytomeric growth

such as is seen in the late stages of *Haemoproteus* or *Leucocytozoon* schizogony.

These large individual plasmodia commence to divide and the islands increase in number and decrease in size. Some hundreds are formed by this process of purely cytoplasmic division and each contains at first approximately 100 diminishing to 8 and 4 nuclei (Figs. 7, 8, 9, 10). Any one parasite may contain islands which have from 20 to 4 nuclei but 8 nucleated and 4 nucleated islands appear to be definite stages in the overall growth process. A single vacuole of 5 - 10 μ may be present at this stage. The last process to be seen clearly in the material available is the formation of thousands of two nucleated islands still separate. Undoubtedly nuclear division has continued during most of these changes but it appears to stop when 8, 4 and 2 nucleated islands are formed (Fig. 11). Thus the process within the parasite is grossly a process of cytoplasmic division with nuclear division continuing within the segments of the parasite. There is also some increase in the overall size of the parasites and it would seem that cytoplasmic growth continues between cytoplasmic divisions.

The next stage seen in any clarity is the mature schizont consisting of thousands of merozoites with no residual body (Fig. 12). It is not clear if these have been formed by simple cytoplasmic division of the bi-nucleated masses as unfortunately present cytological methods do not allow such close examination of processes 2 to 3 μ in diameter. There is no evidence of budding as such and indeed it is difficult to visualise the budding off of two merozoites from a double-nucleated mass in the absence of any residual body.

The nuclei at all times in these stages are Feulgen positive and the best view of them in particular is obtained by Wolcott's method of Giemsa staining post-hydrolysis (Figs. 4, 5, 7, 8, 9). There is a reasonably distinct envelope around the parasite prior to the separation into islands and the large islands posses an equally distinct envelope. This envelope becomes less distinct as the islands decrease in size and cannot be seen in the 8, 4 and 2 nucleated stages. As far as could be seen late islands contained exactly 8, 4 and 2 nuclei as a general rule though no doubt exceptions occur. The structure of the nuclei themselves presents nothing of particular interest. No material was seen in the vacuoles and their purpose seemed to be purely a process of extending the surface area of cytoplasm. Phase-contrast microscopy and the staining methods using haematoxylin were not found to be useful.

In two cases the parasites were seen to cause enlargement of the host cell nucleus.

IV. DISCUSSION

This growth process which probably occupies less than 24 hours in time is essentially one of plasmotomy, that is, the cytoplasmic fission of a multinucleate mass into two or more multinucleate masses. It is not cytomere formation if it is accepted that cytomeres commence as uninucleate masses thrown off as a part of a merogonic process (schizogony) nor obviously is the process typically schizogony or the simultaneous multiple production of uninucleate bodies as an end process.

However the events leading up to actual plasmotomy were typical of schizogony as seen in the pre-erythrocytic forms of *P. cynomolgi* in which plasmotomy does not occur (Bray 1957) (*).

It should be mentioned here that an incomplete study of the oöcysts of *L. falciparum,* which, when completed, will be the subject of a future paper in this series, has revealed many oöcysts in which anastomosis of septa has occurred but no plasmotomy and a few oöcysts in which anastomosis of septa is followed by some plasmotomy.

Thus we have a situation with the pre-erythrocytic forms of *L. falciparum* from the chimpanzee in which the first 5½ days of growth are typical of classical schizogony. At this stage vacuolation and anastomosis of septa occur which are characteristic of the type of growth seen in sporogony. Following this there is distinct and invariable plasmotomy. Plasmotomy continues apparently until uninucleate daughter parasites are formed.

True schizogony and true plasmotomy have been described at different stages in a portion of the life cycle in the haplosporidian *Coelosporidium* (Ivanič 1926) and occurs undoubtedly in the oöcysts of *L. falciparum* but the situation in *L. falciparum* calls into doubt the rigid separation of these two phenomena. If anastomosis of septa is accepted as normal in schizogony (as indeed it is) the one further step of fission of the septa into separate masses would seem insufficient to transport the process into an entirely different rigid category. Similarly the separation of multinucleate masses is on the face of it not so widely different to the formation of cytomeres. The stumbling block to the conception of plasmotomy as a step in a schizogonic process in *L. falciparum* is the basic process of simultaneous division into uninucleate masses or in the words of some authorities « budding ». If simultaneous division or budding is the fundamental definitive process in schizogony then the plasmotomy process in *L .falciparum* is distinct and in fact the process of growth of the

(*) Since the completion of this manuscript Garnham (Riv. Parassit., *20,* 273, 1959) has described a new sub-species, *P. cynomolgi bastianellii,* which does display some evidence of a plasmotomy process.

pre-erythrocytic forms of *L. falciparum* is not schizogony. However the process of growth of the microgametocyte is definitely and that of the oöcyst is usually schizogonic therefore it seems necessary to use a word more general than plasmotomy or schizogony (strictly defined) to define all forms of multiple division from multinucleate plasmodia and to redefine schizogony so that the process outlined here may be accommodated without disturbing too radically present usage.

The word syntomy of Dogiel (1951) would seem to be preferable to describe all multiple division of multinucleate organisms. Syntomy is here defined as multiple division of multinucleate unicellular organisms and includes schizogony, plasmotomy and gametogony. The third process of gametogony is given separate status in order to distinguish asexual and sexual phases though gametogony may show exactly the same growth and division processes as schizogony such as the microgametogony of the Coccidiida and Adeleida.

Some further definition of these definitive words describing division processes is necessary in the light of newer knowledge. Thus in order to include such processes of division as appear in *L. falciparum* and *Coelo-*

LIST OF FIGURES

All figures are untouched Kodachrome colour photomicrographs of sections of pre-erythrocytic forms of *L. falciparum* using the Zeiss Standard microscope and camera attachment, basic body No. 2, with 8 x eyepiece and 100 x objective. All parasites except that in Fig. 1 are 6 or 6 1/4 days old. GC = Giemsa-colophonium stain; GCH = Giemsa-colophonium stain following 10 minute hydrolysis with N hydrochloric acid.

Fig. 1 - 5 day old form. The parasite is a nearly solid plasmodium with a small vacuole commencing to appear. GC.

Fig. 2 - The commencement of aposchizogony. A large vacuole has formed and the nuclei have migrated to the periphery of the cytoplasm. GC.

Fig. 3 - Further vacuolation proceeding and showing a clear central vacuole and peripheral nuclei in the forming septa. GC.

Fig. 4 - Anastomosis of septa by considerable vacuolation and the distribution of nuclei along edges. GCH.

Fig. 5 - The separation into cytomeres of the septa by simple cytoplasmic fission. Note the peripheral nuclei. GCH.

Fig. 6 - The formation of large separate cytomeres each with several hundred peripheral nuclei. In places the cytomeres formation from the septa is not complete. GC.

Fig. 7 - Completed cytomere formation with medium size cytomeres each with about 100 peripheral nuclei. GCH.

Fig. 8 - An aposchizont with numerous cytomeres each containing about 25-75 nuclei. GCH.

Fig. 9 - Two aposchizonts both containing cytomeres of the same size but in one a further nuclear division has formed many more nuclei per cytomere. GCH.

Fig. 10 - An aposchizont which contains some hundreds of cytomeres each with 8-30 nuclei. GC.

Fig. 11 - An aposchizont containing many hundreds of 2 and 4 nucleated cytomeres. GC.

Fig. 12 - A mature form filled with merozoites having lost all appearance of cytomeres, except in one place. GCH.

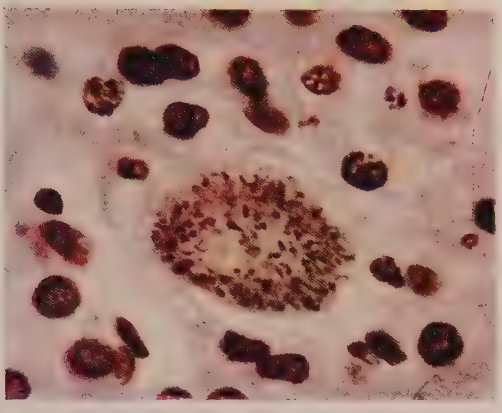


Fig. 1

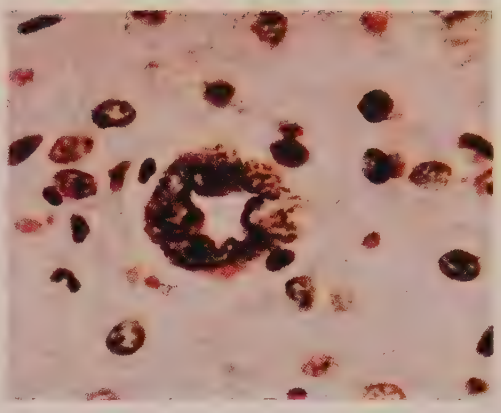


Fig. 2

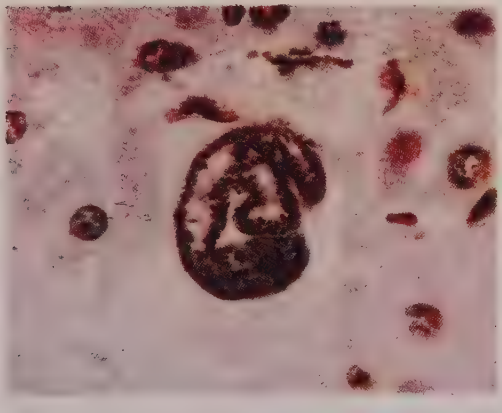


Fig. 3

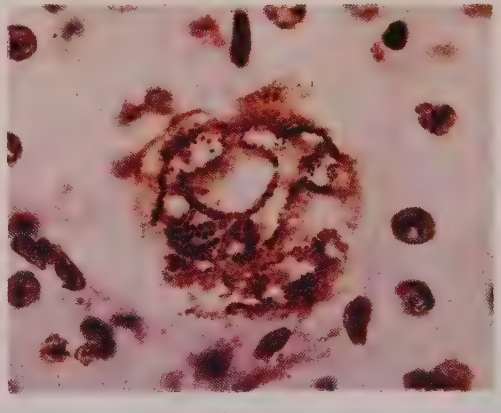


Fig. 4

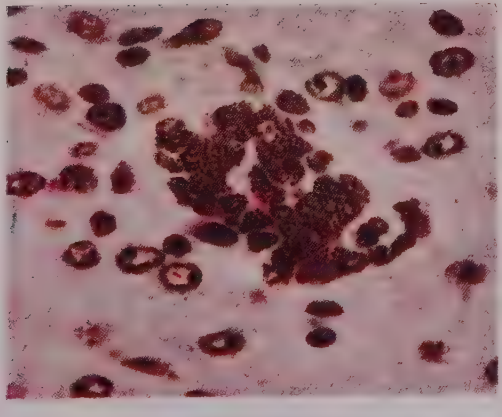


Fig. 5

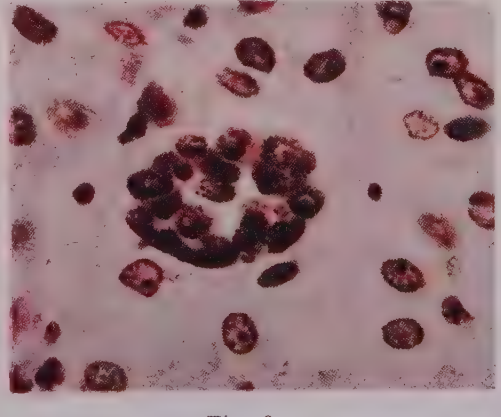


Fig. 6

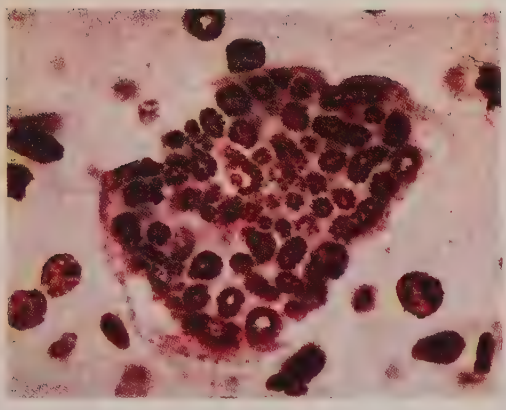


Fig. 7

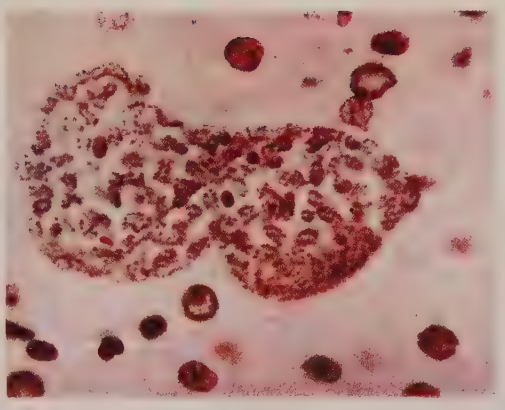


Fig. 8

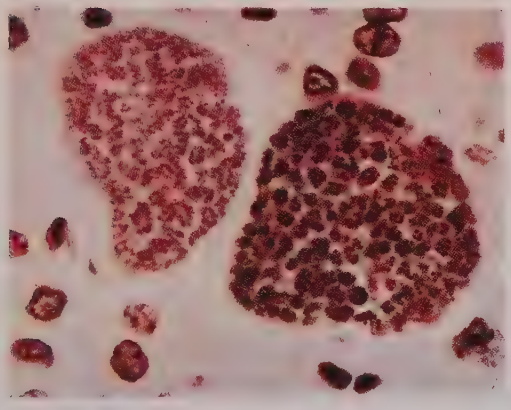


Fig. 9

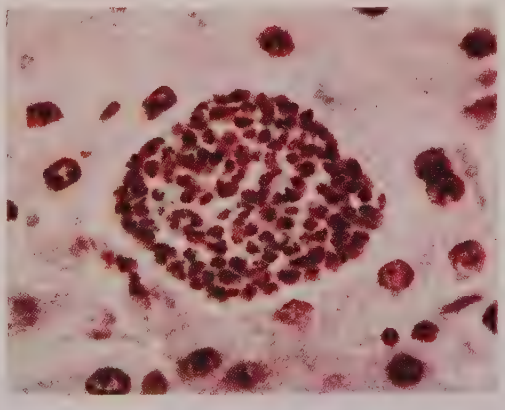


Fig. 10

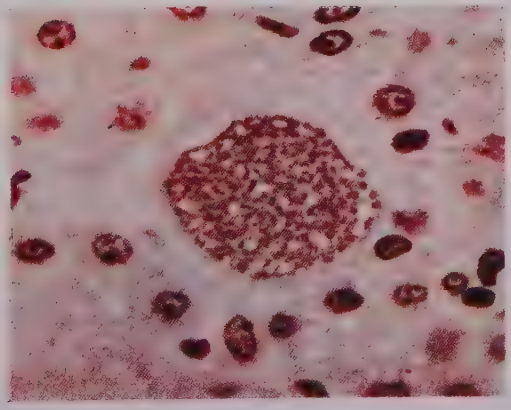


Fig. 11

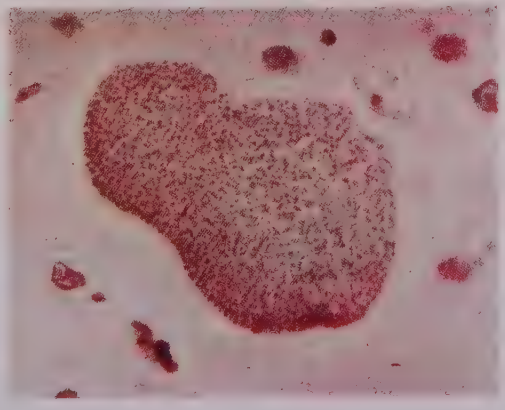


Fig. 12

sporidum within the definition of schizogony and exclude them from the definition of plasmotomy the following definitions are proposed.

Schizogony: That process of reproduction which, commencing as a uninucleate organism, by progressive nuclear divisions with a lesser number or no cytoplasmic divisions forms a multinucleate syncitium or multinucleate syncitia which produce in turn uninucleate daughter organisms.

Plasmotomy: That process of reproduction where a multinucleate syncitium with continuously dividing nuclei and growing cytoplasm divides cytoplasmically to form further multinucleate syncitia and in which neither the parent nor daughter organisms are uninucleate.

Thus the important difference between the two processes becomes the number of nuclei in the first and last stages rather than the mode of division *per se*.

It must be recognised however that the process involved in *L. falciparum* and *Coelosporidium* is not that of the more classical schizogonic division processes as seen in many coccidia. It is proposed therefore to sub-divide the process of schizogony into the two known processes and give them the names euschizogony and aposchizogony.

Euschizogony, the more typical form, is the more or less simultaneous division of a multinucleate syncitium into uninucleate daughter organisms. Aposchizogony is the division of a multinucleate syncitium derived from an uninucleate organism into further multinucleate syncitia, such division continuing until uninucleate daughter organisms are produced as an end-point. The forms derived from these definitions would include a euschizont to describe for instance the typical asexual coccidial schizont and aposchizont to describe the later pre-erythrocytic forms of *L. falciparum* though it is suggested that these terms should only be employed when comparison is necessary. In general the usual terms of schizogony, schizont, etc. can still be used for both processes.

Further definitions are necessary to dispel confusion regarding the products of these division. The word merozoite still holds for the final uninucleated product of schizogony of either type. The word cytomere requires redefinition so that it can fit into either form of schizogony.

Cytomeres are defined as those separate growing nucleated masses produced within a process of schizogony by the division of a schizont. A cytomere may produce further cytomeres but produces uninucleated organisms as a growth end-point.

This definition leaves out any reference to the cytomere itself commencing as a uninucleate body and therefore can contain both the typical cytomeres of *Leucocytozoon* and the islands formed by *L. falciparum* or the « pseudo-cytomeres » of *P. inui*. No mention is made of retention of cytomeres within the schizont space-process because kineto-cytomeres

occur in the form of the sporokinetes in the sporogony process of *Karyolysus* and sporocysts may occur separate and free.

Cytomeres themselves are further divided into cytomeres proper of a merogonic phase and the sporoblasts and sporocysts of the sporogonic phase of the triphasic Sporozoa.

This redefinition of schizogony takes no account of many classical descriptions which interpret schizogony as multiple budding or multiple gemmation (e.g. Wenyon 1926, Hall 1953) and of the classical descriptions of plasmotomy which either do not mention the number of nuclei in the end-point organism (e.g. Hall 1953) or may even state that an uninucleate organism results « at the end of a longer or shorter vegetative existence » (Minchin 1912). Unfortunate as this is and confusing as it may be, the redefinition seems forced upon one by the present facts. Thus *L. falciparum* divides and multiplies by schizogony and as far as we know employs euschizogony in the blood, definitely gametogony in the blood in the mosquito, both euschizogony and aposchizogony in the mosquito gut and aposchizogony in the liver forming cytomeres prior to merozoite formation.

Among the Mastigophora syntomy would also include the internal budding in syncitia to be seen in *Tritrichomonas augusta* or *Cloacium*, under certain conditions in *Trypanosoma cruzi* (Adler 1958) and the plasmotomy of *Coronympha* and presumably other Calonymphidae (Kirby 1939).

The can be little doubt that a mixture of euschizogony and aposchizogony also occurs in *Plasmodium*. *P. inui* displays true aposchizogony with the formation of cytomeres in the pre-erythrocytic generation of its tissue phase (Garnham 1951). *P. gonderi* would also appear to show it in a fleeting and modified form and as with the oöcysts of *L. falciparum* perhaps *P. gonderi* in the pre-erythrocytic forms displays both euschizogony and aposchizogony (Garham et al. 1958). *P. knowlesi* undoubtedly displays aposchizogony of an interesting form. Garnham et al. (1957) state that first the cytoplasm flocculates leaving the nuclei among tenuous strands of residual cytoplasm. These strands then contract into the flocculi carrying with them the nuclei. The result is the cytomeres as seen in *L. falciparum*. Garnham et al. (1957) also noted some suggestion of division of these cytomeres into smaller masses as noted here for *L. falciparum*.

Thus it would appear that the mode of aposchizogony may be by simple cytoplasmic fission due to cleavage or as with *P. knowlesi* a flocculation of cytoplasm which gradually draws all cytoplasm with the nuclei into these condensations. The result is the formation of a number of cytomeres each with its own periplast contained in a structure which might be called a « pseudocyst » by the definition of Lainson (1958). As the structure as a whole does not present the appearance of a cyst even though conta-

ined by the host cell it is preferable to call the whole a schizont or aposchizont.

The appearance of aposchizogony in *L. falciparum* in the liver of chimpanzees raises questions of its use as a taxon. As aposchizogony appears in members of the genus *Plasmodium*, it is not of use in further distinguishing the genus *Laverania* despite the fact that aposchizogony seems to be more clear-cut in *Laverania*.

Aposchizogony as a clear-cut process is undoubtedly a characteristic of Liberian strains of *L. falciparum* in the chimpanzee. As aposchizogony as such has not been reported in the pre-erythrocytic forms of a Rumanian strain of *L. falciparum* (Shortt et al. 1951) or a Panamanian strain of *L. falciparum* (Jeffery et al. 1952) the old question of « *L. immaculatum* » as a separate tropical African species is again raised. However there is some evidence of aposchizogony to be found in the descriptions by Shortt et al. (1951) and Jeffery et al. 1952; enough at present to persuade one that some aposchizogony may occur in both European and New World strains of *L. falciparum* and that an African strain showing pronounced plasmotomy in a chimpanzee could not be elevated to specific status on this present evidence alone.

This discussion has not taken into account the discussions by Chalmers and Archibald (1920), Yorke et al. (1930), Hingst (1934) and Beach (1936) who have reported and discussed a form of binary fission in the asexual multiplication of the blood forms of malaria parasites as an exploration of such phenomena as « pairing » (see also the conjugation theory of Craig, 1910) double chromatin dots in the ring forms and multiple infection. None of these discussions can be taken entirely seriously so long as the technique of study includes dry fixation of blood films.

OSSERVAZIONI SULLA CITOLOGIA E MORFOLOGIA DEI PARASSITI MALARICI DEI MAMMIFERI. I. UN PROCESSO DI APPARENTE PLASMOTOMIA NELLA FASE PREERITROCITARIA DI *LAVERANIA FALCIPARUM*.

Viene descritto un processo di aposchizogonia quale si verifica nella generazione preeritrocitaria di un ceppo africano di *L. falciparum* nel fegato dello scimpanzè. Verso la fine della generazione le anastomosi del plasmodio ed i setti che ne risultano si dividono, mediante scissioni citoplasmatiche, in plasmodi multinucleati o citomeri. Questo processo prosegue finché nell'aposchizonte si formano citomeri binucleati. Inizialmente i citomeri sono distinti e posseggono un loro proprio periplasto. Non è noto come si formino i merozoiti.

Si discute su questo processo, e viene differenziato da quello della schizogonia classica. La combinazione tra la schizogonia classica ed un'apparente plasmotomia, quale si verifica nella popolazione di un'unica specie, in questo caso *L. falciparum*, viene indicata come schizogonia, termine che viene ridefinito. La schizogonia classica viene ridefinita come euschizogonia, ed il processo osservato come aposchizogonia.

Si conclude che anche altri ceppi di *L. falciparum* e *P. inui*, *P. knowlesi* e *P. gonderi* mostrano o possono mostrare aposchizogonia nella loro generazione preeritocitaria e che quindi la presenza dell'aposchizogonia nel ciclo vitale non è un carattere tassonomico utile per la classificazione dei parassiti malarici dei mammiferi.

REFERENCES

ADLER S. (1958). The action of specific serum on a strain of *Typanosoma cruzi*. *Ann. Trop. Med. Parasit., 52,* 282.

BEACH, T. de V. (1936). Evidence of binary fission of ring forms in *Plasmodium vivax*, Grassi and Feletti. *Amer. J. Trop. Med., 16,* 147.

BRAY, R. S. (1957). « Studies on the Exo-erythrocytic Cycle in the Genus *Plasmodium* ». *London Sch. Hyg. Trop. Med. Memoir No. 12.* H. K. Lewis Co. Ltd., London, p. 108.

BRAY, R. S. (1958). Studies on Malaria in Chimpanzees. VI. *Laverania falciparum*. *Amer. J. Trop Med. Hyg., 7,* 20.

BRAY, R. S., BURGESS, R. W., FOX, R. M. & MILLER, M. J. (1959). Effect of pyrimethamine upon sporogony and pre-erythrocytic schizogony of *Laverania falciparum*. *Bull. Wld. Hlth. Org., 21,* 233.

CHALMERS, A. J. & ARCHIBALD, R. G. (1920). The « tenue » phase of *Plasmodium vivax* (Grassi and Feletti, 1890). *J. Trop. Med. Hyg., 23,* 33.

GRAIG, C. F. (1910). Studies in the morphology of malaria plasmodia after the administration of quinine and in intracorpuscular conjugation. *J. Infect. Dis., 7,* 285.

DOGIEL, V. A. (1951). « General Protistology », Moscow, (in Russian).

GARNHAM, P. C. C. (1951). The mosquito transmission of *Plasmodium inui* Halberstaedter and Prowazek, and its pre-erythrocytic development in the liver of the rhesus monkey. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 45,* 45.

GARNHAM, P. P. C., LAINSON, R. & COOPER, W. (1957). The tissue stages and sporogony of *Plasmodium knowlesi*. *Trans. Roy, Soc. Trop. Med. Hyg., 51,* 384.

GARNHAM, P. C. C., LAINSON, R. & COOPER, W. (1958). The complete life cycle of a new strain of *Plasmodium gonderi* from the drill *(Mandrillus leucophaeus)*, including its sporogony in *Anopheles aztecus* and its pre-erythrocytic schizogony in the rhesus monkey. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 52,* 509.

HALL, R. P. (1953). « Protozoology ». Prentice-Hall Inc., New York.

HINGST, H. E. (1934). *Plasmodium falciparum* Welch, 1897. Does direct division of the parasite precede schizogony? *Amer. J. Trop. Med., 14,* 325.

IVANIC M. (1926). Zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte von *Coelosporidium periplanetae* (Lutz u. Splendore). *Arch. Protistk., 56,* 63.

JEFFERY, G. M., WOLCOTT, G. B. YOUNG, M. D. & WILLIAMS, D. (1952). Exo-erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1,* 917.

KIRBY, H. (1939). Two new flagellates from termites in the genera *Coronympha* Kirby, and *Metacoronympha* Kirby, new genus. *Proc. Calif. Acad. Sci., 22,* 207.

LAINSON, R. (1958). Observations on the development and nature of pseudocysts and cysts of *Toxoplasma gondii*. *Trans. Ray. Soc. Trop. Med. Hyg., 52,* 396.

MINCHIN, E. A. (1912). « An introduction to the study of the Protozoa ». Edward Arnold, London.

SHORTT, H. E. & COOPER, W. (1948). Staining of microscopical sections containing protozoan parasites by modification of McNamara's method. (Demonstration). *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 41,* 427.

SHORTT, H. E., FAIRLEY, N. H., COVELL, G., SHUTE, P. G. & GARNHAM, P. C. C. (1951). The pre-erythrocytic stage of *Plasmodium falciparum*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 44,* 405.

WENYON, C. M. (1926). « Protozoology ». Baillière, Tindall and Cox, London, p. 921.

WOLCOTT, G. B. (1952). Mitosis in *Trypanosoma lewisi*. *Jour. Morph., 90,* 189.

YORKE, W., MURGATROYD, F. & OWEN, D. U. (1930). Observations on five cases of blackwater fever. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 23,* 335.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXI - N. 4 - Dicembre 1960

I RAPPORTI TRA PARASSITOSI, STERILITA' MASCHILE E PARTENOGENESI ACCIDENTALE IN POPOLAZIONI NATURALI DI *HAPLOEMBIA SOLIERI* RAMB. *ANFIGONICA*

RENZO STEFANI (*)

Dallo studio, nelle condizioni naturali, dell'*Haploembia solieri*, altamente infestata dalla gregarina *Diplocystis clerci*, risulta un elevato grado di sterilità maschile determinato dall'evoluzione patogena dell'infezione parassitaria.

Ne consegue mancata fecondazione di un certo numero di uova anfigoniche che, in parte, non si sviluppano affatto, in parte iniziano lo sviluppo partenogenetico con i processi di regolazione cromosomica già noti per le uova vergini e lo conducono a termine.

Si constata quindi in natura, una relazione di causa ed effetto tra malattia parassitaria e sterilità maschile e successivamente tra sterilità maschile e partenogenesi accidentale.

INTRODUZIONE

La presente ricerca ha lo scopo di valutare, nelle popolazioni naturali, l'entità di quei fenomeni di sterilità maschile già da me ottenuti sperimentalmente nell' *Haploembia solieri* mediante infezione con la Gregarina celomatica *Diplocystis clerci*, di esaminarne le conseguenze sulla riproduzione e stabilire il valore dei rapporti naturali esistenti tra malattia parassitaria, conseguente sterilità maschile e partenogenesi accidentale nel biotipo anfigonico di questa specie.

I risultati sperimentali sulla partenogenesi sono stati da me ampiamente discussi nel precedente lavoro comparso nel numero 2 del Volume XXI di questa Rivista, mentre per quanto riguarda il ciclo biologico del parassita, il grado di infestazione naturale, la distribuzione geografica, ecc. rimando il lettore ad altre mie pubblicazioni (STEFANI 1956, 1959).

Parallelamente allo studio della parassitosi, ho condotto, e sto conducendo tuttora, alcune ricerche sperimentali sulla insorgenza della partenogenesi accidentale nel biotipo anfigonico, ricerche che, è bene ricor-

(*) *Istituto di Zoologia dell'Università di Cagliari.*

darlo, consistono semplicemente nell'osservare la riproduzione di molte migliaia di femmine anfigoniche mantenute in condizioni di verginità.

In questo settore della ricerca, ho potuto finora dimostrare che dalle uova non fecondate si hanno nascite sporadiche di larve, alcune delle quali raggiungono lo stadio adulto e a loro volta si riproducono partenogeneticamente. L'analisi citologica delle uova deposte da tali femmine esula dagli scopi della presente ricerca.

Stabilito quindi ormai definitivamente che la femmina anfigonica, in condizioni di verginità, è capace di riprodursi per partenogenesi, sia pure con carattere di accidentalità, a noi interessa vedere, in questa sede, se tale partenogenesi accidentale avvenga o no in natura, se sia accompagnata dalla condizione di verginità o se invece esistano altre condizioni, determinanti, in ultima analisi, la mancata fecondazione dell'uovo anfigonico.

Come è noto, la parassitosi ha un carattere endemico in determinate zone dell'areale. Ho dimostrato (Stefani 1959) come esistano popolazioni anfigoniche altamente colpite dal parassita (es. Varigotti, Cervo) in promiscuità con popolazioni partenogenetiche, e come altre, quasi indenni (es. Ventimiglia, Civitavecchia) siano invece anfigoniche pure o quasi pure. Risulta che le popolazioni altamente infestate non sono *mai* anfigonicamente pure ma sono sempre costituite da una percentuale anfigonica e da una partenogenetica, diversamente rappresentate.

Partendo dal presupposto che l'evoluzione partenogenetica sia in atto soprattutto là dove maggiore esiste attualmente il grado di infezione parassitaria, ho scelto, quale materiale di ricerca, nel presente lavoro, le popolazioni promiscue di Varigotti (costa ligure di ponente) di cui sono noti: il rapporto numerico tra femmine anfigoniche e femmine partenogenetiche (*partenogenesi obbligatoria*) corrispondente al 36,23% delle prime e al 63,77% delle seconde; il grado di infezione naturale nel biotipo anfigonico (55,07% di individui infetti di entrambi i sessi) ed infine il rapporto sessi nello stesso biotipo, che a Varigotti, è rappresentato dal 44% di maschi e dal 56% di femmine.

Per confronto, il rapporto sessi nelle popolazioni anfigoniche quasi pure di Civitavecchia e Ventimiglia è più vicino a quello 1 : 1, o, se mai, si ha una leggera preponderanza numerica dei maschi.

Attribuisco lo scarto di Varigotti non ad una maggiore mortalità dei maschi rispetto alle femmine derivata dall'infezione parassitaria, come potrebbe a prima vista sembrare, ma alla presenza di femmine anfigoniche partenogenetiche accidentali in seno alla popolazione anfigonica, le quali femmine di norma sono morfologicamente e citologicamente indistinguibili da quelle nate da uova normalmente fecondate. Ritornerò su questo punto in altra parte del presente lavoro.

ANALISI QUANTITATIVA DELLA PARASSITOSI E DELLA STERILITA' NELLA POPOLAZIONE DI VARIGOTTI.

E' stato constatato che la parassitosi colpisce, in egual misura, entrambi i sessi ma le conseguenze determinate dall'evoluzione patogena del parassita sono invece diverse (Stefani 1960), avendosi nel maschio sterilità parziale o totale, nella femmina, al più riduzione della produzione ovarica. Trascureremo, nel presente lavoro, la ricerca sulla riduzione ovarica.

Allo scopo di stabilire quantitativamente il diverso andamento dello sviluppo parassitario nel sesso maschile, ho esaminato un lotto di esemplari maschi adulti di Varigotti dopo aver scartato gli individui indenni.

Su 620 esemplari colpiti dalla parassitosi che sono stati esaminati ho trovato:

Maschi contenenti cisti celomatiche	60 %
Maschi contenenti corpi necrotici sulla parete mesenteriale	17,5%
Maschi con cisti celomatiche + corpi necrotici	15 %
Maschi con esiti palesi dell'infezione (sinechie)	7,5%

Questi dati stanno ad indicare che nel 60% dei maschi infetti, lo sviluppo del parassita è stato normale mentre nel rimanente 40% si è avuta evoluzione patogena dell'infezione parassitaria con morte di tutti (17,5%) o solo di una parte (15%) dei parassiti e formazione successiva dei corpi necrotici. Per questa percentuale di individui (40%) c'è quindi da attendersi un maggior o minor grado di sterilità dipendente dall'epoca in cui l'infezione o le infezioni hanno avuto luogo.

Indubbiamente, la percentuale dei maschi, in cui si è avuta evoluzione patogena della gregarinosi, è superiore a quella testé fornita, sia perché non sono rappresentati gli individui deceduti in seguito alla infezione (i conteggi dei cadaveri, pur esistenti in natura ed in proporzioni alquanto elevate, sono ovviamente aleatori), sia perché le infezioni precoci, completamente risoltesi, non lasciano traccia, dopo un certo tempo, di corpi necrotici che vengono, come è noto, espulsi dalla parete intestinale e fagocitati definitivamente nell'emocele. In molti casi, inoltre, gli esiti non sono esistenti o ben riconoscibili.

Ad ogni modo, i dati forniti, oltre che riconfermare qualitativamente la corrispondenza tra infezione sperimentale ed infezione naturale, dimostrano, sia pure approssimativamente, che una cospicua percentuale di individui del sesso maschile può essere colpita dalla mesenterite e quindi soggiacere ad un periodo di inanizione per blocco della funzione digerente. Del resto, i vari stadi della malattia sono stati istologicamente già riconosciuti nello studio delle larve provenienti dall'ambiente naturale (Stefani 1960).

Per stabilire con certezza l'entità delle conseguenze ultime del processo patologico, cioè la sterilità maschile, non rimaneva altro metodo che quello dell'analisi dello sperma. L'esame sarebbe stato tecnicamente più facile nei maschi ma tale analisi avrebbe falsato la realtà in quanto, agli effetti della sua capacità fecondativa, esistono essenziali differenze tra sperma in sede maschile (testicoli e vescicole seminali) e sperma in sede femminile (spermoteca). In sede maschile, lo sperma è appena prodotto e vi si mantiene per un tempo relativamente breve per cui il suo grado di vitalità, nei casi in cui questa sia menomata, è indubbiamente superiore a quello della spermoteca ove esso permane per un lungo periodo di tempo corrispondente a tutta la durata della deposizione.

L'analisi in sede maschile non avrebbe quindi fornito risultati attendibili, corrispondenti alla reale capacità fecondante dello sperma all'atto della deposizione delle uova.

Un esame orientativo delle vescicole seminali ha dimostrato che il reperto patologico più frequente riguarda le *dismorfie* del nemasperma e *l'oligozoospermia,* più che la riduzione della mobilità assai difficilmente valutabile ai fini della diagnosi di sterilità.

Ho concentrato pertanto la mia attenzione sull'analisi del liquido seminale contenuto nella spermoteca ed ho esaminato le femmine in un periodo in cui la deposizione delle uova era già iniziata, in modo da cogliere in atto le anomalie della fecondazione e dello sviluppo dell'uovo.

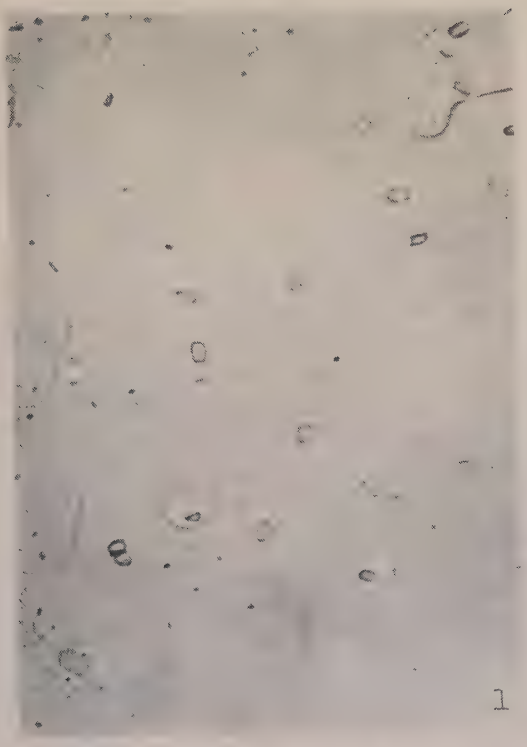
L'esame è stato eseguito su 500 femmine adulte, deponenti. La tecnica usata è la seguente: la femmina viene vivisezionata, se ne estirpa la spermoteca intera che viene passata *immediatamente* su vetrino e coperta dal coprioggetto subito lutato ai margini con vaselina. La pressione del coprioggetto è generalmente sufficiente a dilacerare la spermoteca e farne uscire il contenuto che quindi non viene *né diluito né in altri modi alterato.*

Le percentuali ottenute da tale esame sono le seguenti:

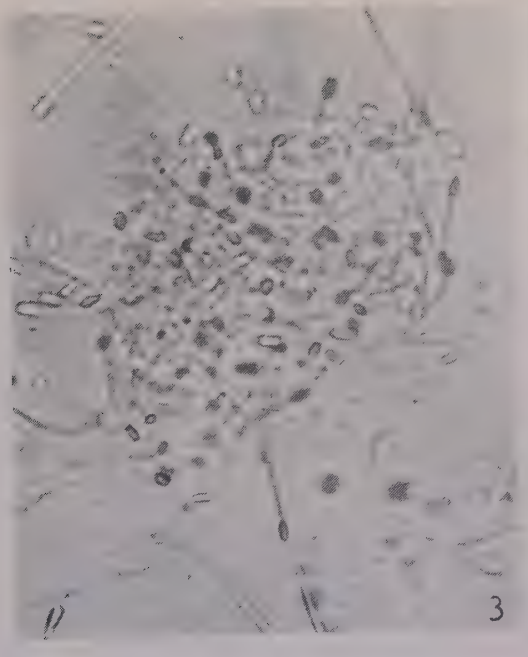
Sperma qualitativamente normale	58,8%
Bradicinezoospermia + Acinesia assoluta	12,4%
Anencefalia + Agglutinazione spermatica	22,6%

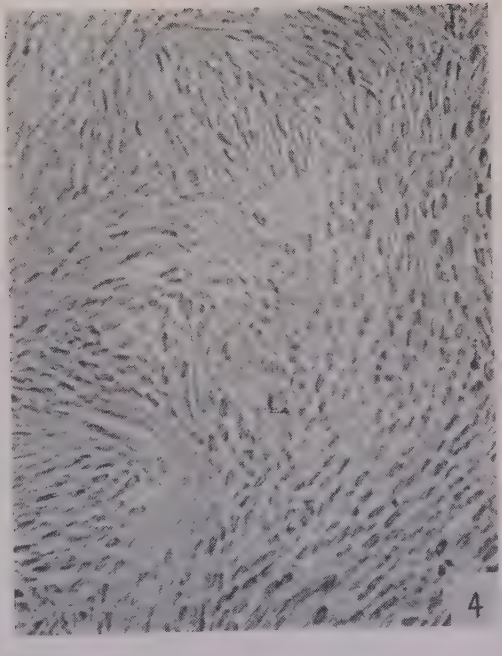
SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

1 - Oligozoospermia ed anencefalia in sperma prelevato dalla spermoteca di *Haploembia solieri* durante la deposizione ed esaminato immediatamente, a fresco.
2 - Azoospermia in sperma esaminato nelle stesse condizioni del preparato precedente. Nel liquame si riscontrano rarissimi nemaspermi immobili in via di degenerazione (indicati dalle frecce).
3 - Oligozoospermia, parziale anencefalia ed agglutinazione spermatica in sperma nelle stesse condizioni dei preparati precedenti. Alcuni degli spermi rappresentati possedevano ancora un fiacco movimento ondulatorio.
4 - Controllo: sperma normale, prelevato dalla spermoteca come nei tre casi precedenti e preparato nella stessa maniera.


1

2


3


4

Necrozoospermia totale + Azoospermia	6,2%
Aspermatismo (condizione verginale)	0 %

Oligospermia ed oligozoospermia.

Le anomalie sopra indicate sono sempre accompagnate da un grado più o meno intenso di oligozoospermia. La riduzione della quantità assoluta dello sperma (*oligospermia*) o del numero dei nemaspermi (*oligozoospermia*) viene generalmente considerata dagli Autori come causa di sterilità, con ampio margine di interpretazione personale. Nel nostro caso non è possibile stabilire quale sia il limite quantitativamente sufficiente per la fecondazione di tutte le uova che la femmina depone.

L'oligospermia, nei casi più accentuati, determina quella che si può definire *sterilità terminale* consistente in un esaurimento della riserva spermatica per cui uova che vengono successivamente deposte non sono fecondate. Casi come questi non interessano però il materiale qui esaminato.

Bradicinezoospermia ed acinesia assoluta.

Sono due condizioni patologiche strettamente collegate fra loro in quanto la lentezza del movimento dei nemaspermi conduce, dopo un certo tempo, alla loro immobilità. Questi fatti si possono constatare microscopicamente con la massima chiarezza nell'indicata percentuale delle femmine in cui la diminuita vitalità dei nemaspermi esiste con diversi gradi di intensità.

Anencefalia ed agglutinazione spermatica.

Col termine *anencefalia* comprendo quel tipo di anomalia consistente nella presenza di nemaspermi sprovvisti della testa. Praticamente questo carattere equivale al suo contrapposto (spermi sprovvisti di coda) in quanto si nota nei preparati un numero pressapoco uguale di teste e di code che, evidentemente, si sono staccate le une dalle altre dopo la morte dello spermatozoo (fig. 1).

Io penso che esista una seriazione di tutti questi stadi e cioè che dalla lentezza di movimento rispondente ad una ridotta vitalità dello sperma (stadio patologico iniziale) si passi alla immobilità completa (*acinesia*) e quindi al fenomeno graduale dell'anencefalia. Molto spesso tale anomalia è accompagnata da fenomeni di agglutinazione di spermi in grumi di sostanza amorfa probabilmente derivata da alterazione di parte del liquido seminale, come mostra la fig. 3.

Necrozoospermia totale ed azoospermia.

In questi due tipi di condizioni patologiche dello sperma, comprendo quei casi in cui il contenuto della spermoteca è costituito unicamente da un liquame, più o meno denso, in cui si rinvengono singoli spermatozoi immobili o degenerati. Il liquido seminale non contiene nessuno spermio vivente (fig. 2).

Aspermatismo (verginità).

E' la condizione di assenza assoluta di liquido seminale nella spermoteca. Tale condizione corrisponde a mancata fecondazione della femmina e quindi alla sua verginità, ed è distinguibile da quella, sopra ricordata, della *sterilità terminale* in quanto in questa si repertano sempre singoli spermi residui o tracce di liquido seminale nella spermoteca.

Nessuno dei 500 esemplari è stato trovato in condizioni di verginità, per cui bisogna ammettere che, anche nelle popolazioni altamente infestate come quelle di Varigotti, tutte le femmine subiscono l'accoppiamento.

Dato che è stata riscontrata nella popolazione studiata una prevalenza numerica delle femmine rispetto ai maschi, dobbiamo dedurre che alcuni di essi fecondano più di una femmina. Vengono quindi fecondate anche le femmine derivate da uova sviluppatesi per partenogenesi accidentale nelle quali, evidentemente, non esiste amissia (che, ricordiamolo, esiste invece come norma, nelle femmine del biotipo partenogenetico).

Dato questo ritorno all'anfigonia della partenogenesi accidentale, si dovrebbe concludere, a prima vista, per l'esistenza fugace di tale tipo di partenogenesi che, teoricamente, sarebbe quindi limitata ad una sola generazione. In realtà, per il carattere endemico e non epidemico della parassitosi, e per l'elevato grado di incidenza dell'andamento patogeno della infezione parassitaria, si può ammettere che, in certe femmine, la partenogenesi accidentale si protragga per diverse generazioni.

Dobbiamo riconoscere che lo studio di questi fenomeni criptici interessanti singoli individui dispersi e confusi nella massa delle popolazioni naturali, costituisce un problema ben arduo da risolvere.

Dismorfie spermatiche.

Le percentuali delle dismorfie del nemasperma non sono state calcolate per evidente impossibilità pratica dei conteggi nello sperma alterato ed agglutinato. Come già descrissi, (Stefani 1960) esse consistono in alterazioni morfologiche di vario tipo (macrospermatozoi atipici, spermatozoi bicefalici, spermatozoi con goccia protoplasmatica, ecc.).

Tali anomalie sono presenti sia in sede maschile che femminile. La

presenza di spermi dismorfici è sempre correlata alla oligozoospermia ma interessa una minoranza di elementi e non comprende mai tutta o quasi tutta la massa spermatica, come invece avviene per le alterazioni cinesiche. Pertanto tali anomalie morfologiche vanno considerate, più che altro, come un indice delle condizioni patologiche generali dello sperma.

Sulla base di questi dati e di queste osservazioni, appare quindi delineato l'andamento dei processi di alterazione della capacità fecondativa dello sperma. Non siamo in grado, invece, di stabilire con certezza in quale stadio degenerativo lo sperma diventa infecondo. Consideriamo perfettamente inutile emettere giudizi sul grado di infecondità dello sperma patologico. L'infecondità verrà dimostrata a posteriori, mediante la constatazione della mancata fecondazione dell'uovo.

LA RIPRODUZIONE NELLE FEMMINE FECONDATE CON SPERMA PATOLOGICO E L'INSORGENZA DELLA PARTENOGENESI ACCIDENTALE.

L'infecondità dello sperma e le sue conseguenze sullo sviluppo dell'uovo si potevano studiare in due modi diversi: mediante l'analisi citologica della fecondazione; mediante lo studio dell'andamento della segmentazione delle uova.

Lo studio citolcgico diretto della fecondazione dell'uovo non è di facile attuazione nella nostra specie per ragioni pratiche, almeno nella sua applicazione ad un numero elevato di uova, e pertanto non è stato condotto nella presente ricerca.

Il metodo che fornisce invece la massima sicurezza e dà risultati citologici di grande interesse è quello basato sull'analisi della segmentazione dell'uovo.

Fortunatamente noi oggi conosciamo in modo soddisfacente l'andamento dei processi di segmentazione nelle uova anfigoniche fecondate e in quelle anfigoniche vergini (Stefani 1959). Il quadro citologico di questi due tipi di uova è nettamente distinto per una serie precisa di caratteri inconfondibili.

L'uovo anfigonico *fecondato* ha una segmentazione tipica, regolare. I nuclei di segmentazione, tutti rigorosamente diploidi, non presentano fenomeni di fusione nucleare, né mitosi poliploidi, né anomalie mitotiche varie, né ancora processi di picnosi nucleare a carattere imponente.

Nelle uova anfigoniche *non fecondate* in segmentazione, noi riscontriamo i seguenti caratteri distintivi: presenza in diversa misura (a volte totale) di nuclei aploidi; fusioni nucleari, mitosi variamente poliploidi o aneuploidi, mitosi anomale, tripolari, endonucleari, con mancata separazione dei cromatidi o con perdita di cromosomi. Intensa picnosi nucleare nel momento della formazione della piastra germinativa.

La presenza anche soltanto di uno di questi caratteri permette una determinazione netta del tipo di segmentazione, vale a dire dell'avvenuta fecondazione o no dell'uovo anfigonico.

Ora, l'analisi delle uova ottenute mantenendo per un certo tempo le femmine in osservazione, prima di passare alla loro dissezione e all'esame della spermoteca, mi hanno fornito reperti citologici oltremodo interessanti i quali possono essere così raggruppati:

1 - Un primo gruppo comprende le uova a segmentazione regolare e tipica in cui si contano piastre metafasiche con un corredo diploide maschile (19) o femminile (20), per cui si può con tutta sicurezza asserire trattarsi di uova che sono state normalmente fecondate.

2 - Un secondo gruppo comprende uova in corso di segmentazione in cui si riscontrano, con la massima evidenza, i segni di una mancata fecondazione. Tali uova presentano i fenomeni tipici, irregolari, delle uova non fecondate ottenute da femmine vergini. Vi ho repertato: fusioni nucleari, mitosi poliploidi, mitosi tripolari, qualche anomalia mitotica riguardante mancata separazione di cromatidi alla anafase, imponente picnosi nucleare alla formazione della piastra germinativa. Le mitosi diploidi, che sono naturalmente le più frequenti, denunciano un assetto cromosomico $2n = 20$, segno indiscusso che si tratta di uova del biotipo anfigonico e (si badi bene!) non di quello partenogenetico ($2n = 22$).

Siamo di fronte, quindi, senza il minimo dubbio, a uova anfigoniche che si stanno sviluppando per partenogenesi accidentale. Queste uova *non* hanno subito la fecondazione (intesa nel senso citologico di anfimissi). Constatata, a posteriori, la presenza di sperma nelle femmine in questione, come abbiamo visto, dobbiamo di conseguenza attribuire la mancata fecondazione delle uova ad infecondità del liquido seminale, come era da prevedere, impregiudicata restando, almeno per il momento, la sua capacità di attivazione dell'uovo.

3 - Un terzo gruppo di uova comprende, infine, quelle che ho altrove denominato *uova letali,* in cui non si è avuta segmentazione e non si è iniziato lo sviluppo. Anche queste sono uova che non sono state fecondate.

Questa analisi citologica della segmentazione dimostra, in modo ineccepibile, l'esistenza della sterilità spermatica in una parte delle femmine studiate. La percentuale non si è potuta esattamente determinare ma, grosso modo, è risultata proporzionale al numero dei reperti patologici più sopra riportati.

Le conclusioni che si possono trarre da questi fatti sono le seguenti:

1. Nelle popolazioni naturali di Varigotti, altamente colpite dalla parassitosi, esiste una partenogenesi accidentale, derivata da mancata fecondazione di determinate uova per sterilità dello sperma.

2. Queste uova si sviluppano con gli stessi meccanismi di regolazione cromosomica delle uova assolutamente vergini degli allevamenti.

3. La partenogenesi accidentale, nell'ambiente naturale, non avviene attraverso una condizione di verginità femminile ma è collegata, con relazione di causa ed effetto, alla sterilità spermatica.

SULLA POSSIBILITÀ DI ATTIVAZIONE DELL'UOVO DA PARTE DELLO SPERMA STERILE (PSEUDOGAMIA DA STERILITÀ) E SUOI POSSIBILI RAPPORTI CON LA PARTENOGENESI OBBLIGATORIA.

Ci troviamo quindi di fronte a due diverse condizioni della femmina anfigonica adulta deponente: la condizione verginale, « artificiale », dei miei allevamenti, e la condizione di fecondazione con sperma sterile dell'ambiente naturale.

Abbiamo stabilito che in entrambi i casi si ha l'insorgenza della partenogenesi accidentale in cui la regolazione cromosomica dell'uovo si svolge nella stessa maniera, mediante fusioni di nuclei di segmentazione e selezione cariologica della diploidia nucleare al momento della formazione della piastra germinativa (Stefani 1959).

Lo sviluppo partenogenetico, soprattutto in rapporto all'accidentalità del fenomeno, è ovviamente collegato ad una particolare attivazione dell'uovo, vuoi che essa avvenga finché l'uovo si trova nel corpo della madre, vuoi che si effettui dopo che l'uovo è stato deposto.

Possiamo noi ora attribuire un determinato valore ad una supposta, possibile stimolazione dell'uovo da parte di sperma sterile o a vitalità ridotta come quello repertato nelle femmine di Varigotti?

In altre parole, può aver luogo, in Natura, e *non* nei miei allevamenti, una *pseudogamia* in cui lo spermio, indebolito nella sua vitalità, svolga la sola funzione attivante ma non riesca a compiere l'anfimissi?

Possiamo ammettere una *pseudogamia da sterilità?*

Il fatto sperimentalmente dimostrato che l'uovo deposto da femmina vergine sia in grado di svilupparsi nella stessa maniera di quello fecondato da sperma sterile, toglie valore a tale supposizione, per quanto una identificazione qualitativa, intima, dei due diversi processi non sia facilmente determinabile.

Comunque, allo stato attuale della ricerca, considereremo praticamente identiche le due condizioni, soprattutto allo scopo di rivolgere lo studio verso quelle cure parentali alle quali io ho attribuito un valore di stimolazione e che consistono, come è noto, nel trattamento di *alcune* delle uova vergini mediante saliva e con diversi gradi di intensità e di durata (Stefani 1956).

Ma se le due diverse condizioni si possono considerare, almeno per

ora, identiche agli effetti dello sviluppo partenogenetico dell'uovo anfigonico, non lo sono invece sotto un altro punto di vista: quello della *frequenza* della partenogenesi accidentale.

Anche senza attribuire un'azione stimolante allo sperma patologico, possiamo asserire che la partenogenesi accidentale è, senza alcun dubbio, assai più frequente nelle femmine fecondate con sperma sterile che nelle femmine vergini, e ciò perché gli aspetti etologici della deposizione sono diversi.

La femmina mantenuta forzatamente in condizioni verginali, cerca con tutte le sue forze di evadere dalla prigionia con un accanimento talvolta spasmodico. Divora quasi tutte le uova subito dopo la loro deposizione o nell'atto stesso in cui le depone, risparmiandone solo rarissime che, nella maggior parte, abbandona e solo in parte ridotta cura amorevolmente. Solo da queste si hanno, con grande accidentalità, sgusciamenti di larvette partenogenetiche (Stefani 1956).

La femmina, comunque fecondata, invece, tenuta in allevamento nelle stesse condizioni, non esce dal nido, depone regolarmente e non divora le uova ma le cura indistintamente. Soltanto nelle femmine altamente oligospermiche si ha un comportamento che si avvicina a quello delle vergini.

Si potrebbe spiegare l'anomalia etologica collegandola a probabili riflessi determinati dalla tensione della spermoteca e quindi dal grado di riempimento della stessa, non importa quale sia la qualità dello sperma contenuto.

Il comportamento normale delle femmine nelle condizioni naturali consente quindi la deposizione di un numero assai maggiore di uova per cui la frequenza dello sviluppo partenogenetico ne viene, ad ogni modo, favorevolmente influenzata.

E veniamo infine al problema dell'origine della partenogenesi obbligatoria che io ho supposto collegata a quella accidentale.

Ho ammesso infatti ipoteticamente (Stefani 1956) che il raddoppiamento di una coppia di cromosomi, cui appare essere strettamente connessa la partenogenesi obbligatoria, insorga determinando una mutazione. Finora ho condotto la ricerca sulle femmine vergini, ma dalla presente analisi risulta che la condizione di verginità non è presente in Natura.

La questione se esistano dei rapporti tra supposta *pseudogamia da sterilità* ed *insorgenza della mutazione tetrasomica* è ponibile.

Ci potremmo inoltrare nella ipotesi, supponendo che la stimolazione dell'uovo da parte di uno spermio a vitalità ridotta sia in grado di influenzare la fine della prima divisione maturativa determinando la mancata

disgiunzione di una coppia di cromosomi o di influenzare l'andamento della segmentazione o la selezione cromosomica.

Per rendere attuali tali supposizioni ed applicarle come ipotesi di lavoro, occorre però innanzitutto poter escludere, almeno con grandissima probabilità, basandoci su di una ricca e ripetuta sperimentazione, la comparsa del fenomeno mutazionistico nelle uova deposte da femmine vergini. Ma tale esclusione non siamo ancora in grado di fare.

THE RELATION BETWEEN PARASITIC DISEASE, MALE STERILITY AND ACCIDENTAL PARTHENOGENESIS IN NATURAL POPULATION OF *HAPLOEMBIA SOLIERI* RAMB. *ANFIG.*

It has been stated that when parasitic infection of the coelomic Gregarine *Diplocystis clerci* Lég. evolves pathologically, it can produce a general debilitating effect on the host *Haploembia solieri* through long starvation, which is directly connected with the male sterility.

In the natural populations, females, fertilized by sterile sperm, lay eggs normally, but fertilization does not occur. Most of them die but some eggs develop and give rise to parthenogenetic larvae *(occasional or accidental parthenogenesis)*. Cleavage of these eggs shows the same chromosome regulation as in the parthenogenetic eggs obtained by virgin females in the laboratory.

It is demonstrated that accidental parthenogenesis arises in regions where the disease is endemic. Furthermore, in the same regions, a distinct parthenogenetic race is present *(Obligatory parthenogenesis)*.

The author discusses the possibility of derivation of this race from the accidental parthenogenesis in the bisexual form.

Thus, a « cause and effect » connection between parasitic disease, male sterility, lack of fertilization of some eggs and their accidental development is demonstrated.

BIBLIOGRAFIA

STEFANI R. (1956): Il problema della partenogenesi in *Haploembia solieri*. *Mem. Acc. Naz. Lincei. S. VIII*, V, 126-201.

STEFANI R. (1956): Un ciclo endogeno celomatico susseguente al normale ciclo biologico in *Diplocystis clerci* Leg. *Riv. Parass. XVII*, 143-164.

STEFANI R. (1956): Alcuni dati sulla partenogenesi accidentale in *Haploembia solieri Ramb. forma anfigonica*. *Bollett. Zool. XXIII*, 169-175.

STEFANI R. (1959): I fenomeni cariologici nella segmentazione dell'uovo ed i loro rapporti con la partenogenesi rudimentale ed accidentale negli Embiotteri. *Caryologia, XII*, 1-70.

STEFANI R. (1959): Aspetti zoogeografici di un problema evolutivo. *Boll. Zoologia, XXVI*, 105-113.

STEFANI R. (1959): La parassitosi da *Diplocystis* negli Embiotteri con particolare riguardo all'azione patogena esercitata dal parassita sull'ospite. *Riv. di Parass. XXI*, 87-123.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXI - N. 4 - Dicembre 1960

ANOPHELES DU CONGO (*)
3. FAUNE DES GROTTES ET DES ANFRACTUOSITES
Références-Récoltes-Répartition et importance médicale actuelle

M. Lips, A. H. (**)

Cette 3me note sur les Anophèles du Congo, s'occupe des A. *faini, rodhaini* et *vanhoofi*, qui vivent dans des grottes, près de colonies de chauves-souris, infectés par des parasites malariens, et de l'A. *vanthieli*, découvert dans les anfractuosités servant d'abri à des porc-épics, infectés de *Plasmodium atheruri*.

Des références et l'historique des récoltes, ainsi que quelques remarques, sont données. Un tableau de distribution et une carte schématique de la répartition sont annexés.

Dans l'état actuel de nos connaissances, ces quatre Anophèles ne paraissent nullement participer à la transmission de la Malaria humaine.

Preliminaires

Dans nos deux premières notes, nous nous sommes occupés des Anophèles particuliers au Katanga et de quelques Anophèles des galeries forestières. Dans la présente note, nous parlons des Anophèles *faini, rodhaini, vanhoofi* et *vanthieli*. Les trois premiers sont cavernicoles, le dernier paraît se cantonner dans et près des anfractuosités qui servent de refuges aux porc-épics.

On remarquera que l'*A. rodhaini* a déjà été cité dans le 1re note. Nous en reparlons ici pour pouvoir obtenir un *ensemble* de cette faune, si particulière, qu'est la faune cavernicole. Nous disons aussi quelques mots au sujet de deux Anophèles signalés dans la région Ethiopienne, mais hors du Congo, et qui, biologiquement, sont très apparentés, à certains espèces de nos territoires. (*A. cavernicolus* et *A. rageaui*).

Les Culicidae et les chauves-souris

Déjà, avant l'année 1900, des parasites avaient été découverts dans

(*) Les notes 1. et 2. ont été publiées dans la même Revue: 1: vol. XX, n. 3; 2: vol. XXI, n. 1) sous le titre: « Anophèles du Congo Belge ».

(**) *Service d'Etude & Coordination de la Lutte Antipaludique*, S.E.C.L.A., (Medecin Directeur, Chef de Service: Dr. H. Meyus). *Ministère de la Santé, Léopoldville.*

le sang de chauves-souris. Un très grand nombre ont été décrits sous le nom de plasmodium.

En 1953, Garnham (119), a proposé une nouvelle classification des parasites *malariens* des chauves-souris, basée sur les études relativement récentes. Il divise ces hématozoaires en 4 groupes:

1° - *Plasmodium*
2° - *Polychromophilus*
3° - *Hepatocystis*
4° - *Nycteria.*

Le premier groupe, ou *Plasmodium* vrai, est celui dont les parasites se présentent dans le sang superficiel, sous la forme sexuée (*gamètes*) et non sexuée (*schizontes*). Le 2me, 3me et 4me groupe, n'ont, dans le sang superficiel, que des formes sexuées, et pas de schizontes.

Il en résulte:

1° - Le seul *Plasmodium* de chauves-souris, actuellement reconnu dans le monde, est le *Plasmodium roussetti* Van Riel-Hiernaux-L'Hoëst 1951.

2° - Le groupe *Polychromophilus* ne semble pas avoir été signalé en Afrique. Nous l'avons pourtant découvert dans le sang de certaines chauves-souris capturées dans les grottes au Katanga. Notre désignation pour Léopoldville, nous a empêché de poursuivre certaines études. Nous espérons, pourtant pouvoir les compléter, ultérieurement et les publier. Un certain nombre de lames positives on été remises à diverses personnes, ainsi que des organes fixés et conservées dans l'alcool. Le R.P. Félix Anciaux de Faveaux a bien voulu nous faire savoir, que des formes identiques ou ressemblantes au *Polychromophilus* on été trouvées aussi, par lui, dans le sang de chauves-souris diverses, capturées dans d'autres grottes, notamment celles de Kakontwe et de Lubudi.

3° - Le groupe *Hepatocystis,* englobe, actuellement la plupart des parasites malariens rencontrés dans le sang des chauves-souris, y compris ceux qui ont été décrits ou signalés sous le nom de *Plasmodium.*

4° - Le groupe *Nyctéria,* récemment décrit par Garnham, a aussi été trouvé au Katanga, dans le sang de chauves-souris capturées « *sous les routes* », dans des tuyaux betonnés servant à l'évacuation des eaux. Cette étude a fait l'objet d'une première publication avec le très regretté, feu le professeur Rodhain (131).

5° - Le mot « Plasmodium » dans diverses publications, principalement celles de Leleup, doit donc être remplacé par « *parasite malarien* » (probablement *Hépatocystis*), sauf pour celui trouvé dans la grotte du mont Hoyo, qui est, comme nous l'avons dit, le seul *Plasmodium* vrai reconnu et certain.

Actuellement, la *preuve* que ce sont les *Anopheles* qui transmettent le *Plasmodium* de la chauve-souris roussettus, n'a pas encore été fournie. On *suppose* que l'*A. faini* est le vecteur du *Plasmodium roussetti* Van Riel & Hiernaux-L'Hoëst, chez les chauves-souris *Roussettus leachi,* dans les grottes du mont Hoyo.

En ce qui concerne les autres groupes de parasites malariens de chauves-souris (*Polychromophilus, Hepatocystis, Nycteria*), on n'en est même pas encore arrivé aux suppositions.

La recherche du vecteur des *Hepatocystis* est particulièrement intéressante et importante. En effet, les *Hepatocystis* se rencontrent aussi chez d'autres vertébrés, tels les singes, tels les macroscélidés, etc.

Les chauves-souris, au Congo, sont nombreuses. Un certain nombre fréquentent les grottes, d'autres n'y entrent jamais, semble-t-il. On a constaté, la présence de parasites malariens dans le sang de chauves-souris qui pénètrent dans les grottes aussi bien que dans le sang de celles qui n'y pénètrent jamais. Les recherches pour trouver le vecteur de l'*Hépatocystis* (et aussi des autres parasites malariens) ne sont donc pas limitées, à certaines grottes. L'*Hepatocystis epomophori,* décrit en 1915, par Rodhain, (sous le nom de *Plasmodium epomophori*) figure encore avec la mention: « *vecteur inconnu* ». (*)

Nous avons insisté, quelque peu, sur cet aspect, pour attirer l'attention.

LES ANOPHÈLES CAVERNICOLES DE LA RÉGION ETHIOPIENNE

Liste chronologique:

1° - 1945: *vanhoofi* Wanson & Lebied-Grottes de Thysville - Congo.
2° - 1950: *rodhani* Leleup & Lips-Grottes de Kakontwe - Congo.
3° - 1952: *faini* Leleup-Grottes du mont Hoyo - Congo.
4° - 1954: *rageaui* Mattingly & Adam-Tunnel souterrain - Caméroun.
5° - 1954: *cavernicolus* Abonnenc-Grottes en Guinée.
6° - 1959: *vanthieli* Laarman - anfractuosités rocheuses - Congo.

CAVERNICOLUS Abonnenc 1954

Nous n'avons pas encore eu la possibilité de consulter les publications indiquées ci-dessous:

(*) Mr. le Professeur Garnham rencontré en décembre 1960 nous a informé que le vecteur de l'*Hepatocystis* est un « culicoïde ».

Référ. Auteurs.

1954 — Abonnenc - *Bull. Inst. Franç. Afr. Noire (A), 18:* 802-805 (114)
1954 — Abonnenc - *Bull. Mém. Ec. Méd. Pharm. Dakar, 2:* 288-290 (115)

RAGEAUI Mattingly & Adam 1954 (var. de *SMITHI*)

1954 — Mattingly & Adam - *Ann. Trop. Med. Parassitol. 48:* 55-57 (132)

Description basée sur la capture d'une seule femelle, récoltée dans un tunnel souterrain à Oliga, au Caméroun Français. Comparé avec l' *A. vanhoofi, rodhaini* et *faini* du Congo.

1955 — Adam - *Ann. Parasit. Hum. Comp., 30:* 389-394 . . (116)

L'auteur, l'ayant découvert aussi à 100 mètres du gîte, déclare: « cette découverte, nous amène à le considérer comme un exophile, mais *non comme un cavernicole* ».

1956 — Adam & Mattingly - *Bull. Soc. Path. Exot., 49:* 734-747 (117)

Les auteurs le rangent sous la dénomination de *A. rageaui,* variété de *smithi.*

1956 — Languillon, Mouchet, Rivola & Rateau - *Méd. Trop., 16:* 347-378 . . . . . (125)

Les auteurs signalent d'autres captures et observations.

1956 — Hamon, Adam & Grjebine - *Bull. OMS., 15:* 549-592 . (34)

Les auteurs donnent quelques observations.

1956 — Laarman - *Fol. Scient. Afr. Centr., 2 (4):* 18-19 . . (120)

Découverte, au Congo, à Irangi (Kivu) d'un Anophèle qui paraît, dit l'auteur, intimement lié aux refuges des Porcs-épics et qui est soupçonné être le vecteur du *Plasmodium athéruri.* Cet Anophèle est, continue l'auteur, très proche de l'*A. rageaui,* mais en diffère en certains points.

1957 — Mouchet, Gariou & Rivola - *Bull. Soc. Path. Exot., 50:* 157-164 . . . . . (133)

Découverte que l'*A. rageaui* est le vecteur d'un *Plasmodium* de mammifère (Porc-épic). Le plasmodium n'est pas nommé.

1957 — Languillon - *Bull. Soc. Path. Exot., 50:* 362-363 . . . (126)

L'infection de l'*A. rageaui* est rapproché de l'infection de l'Athérure.

1957 — Doby & Mouchet - *Bull. Soc. Path. Exot., 50:* 945-957 . (118)

Le gîte larvaire est décrit (Caméroun du Sud).

La découverte de deux vecteurs différents (*A. rageaui* et *A. vanthieli*) *presque simultanément,* d'un plasmodium qui paraît *identique* (*Plasmodium atheruri*), dans le même mammifère (Porc-épic), en deux *régions très éloignées,* est une coincidence vraiment peu ordinaire.

15) *FAINI* Leleup 1952

Quelques références.	Références Auteurs
* 1951 — Van Riel, Hiernaux, L'Hoest - *Parasitol. 41:* 270-273 (*)	(139)
* 1951 — Fain - Dans Leleup 1952: 151-158	
* 1952 — Leleup - *Rev. Zool. Bot. Afr. 46:* 151-158 . . .	(127)
1953 — Garnham - *Riv. di Malariol. 32:* 149-154 . . .	(119)
* 1954 — Leleup - Confér. Faune & Flore: 372-378 (non consultée)	(128)
1954 — Mattingly & Adam - *Ann. Trop. Med. Parasitol. 48:* 55-57	(132)
* 1955 — Leleup - *Mém. Soc. Roy. Entom. Belgique. 27:* 361-377	(129)
* 1956 — Leleup - *Ann. Mus. R. Congo Belge - In 8° - Sc. Zool. 46:* 63-65	(130)
* 1958 — Laarman - *Folia Scient. Afr. Centr. 4 (1):* 18 . .	(122)

Au Congo

1951 - Van Riel, Hiernaux, L'Hoëst décrivent le *Plasmodium roussetti,* découvert chez une chauve-souris capturés dans la grotte du Mont Hoyo.

1951 (oct.) - Un nouvel Anophèle est découvert par le Docteur Fain, dans la grotte Yolohafiri du Mont Hoyo (Province Orientale - Kibali - Ituri - Territoire de Bunia). L'altitude est de 1.210 m.

1 mâle fut capturée et 1 femelle fut obtenue par élevage individuel.

1952 (Mars) - Retrouvé par Leleup, au même endroit. Une femelle fut capturée sur l'eau du gîte et 24 adultes furent obtenus par élevages individuels. L'auteur donne la description de la femelle, du mâle, de la larve et de la nymphe. L'oeuf n'est pas décrit.

1953 - Garnham donne la classification des parasites malariens rencontrés dans le sang des chauves-souris.

1954 - Mattingly & Adam, donnent la description de l'*A. rageaui* et comparent ses moeurs et sa morphologie à l'*A. faini.*

1955-1956 - Leleup, dans une note sur ses chasses entomologiques (1955) et dans une étude d'ensemble sur la faune cavernicole du Congo (1956) cite à nouveau l'*A. faini,* qu'il relie au *Plasmodium* des chiroptères *Roussettus Leachi* des grottes du mont Hoyo.

Remarques.

1° - Deux adultes seulement ont été capturés: 1 mâle et 1 femelle.

2° - Les larves récoltées furent plus nombreuses: 25 adultes obtenus par élevages individuels des larves.

3° - L'auteur attire l'attention sur le *dimorphisme sexuel* et la *grande variation,* constatée. Ces deux observations méritent, semble-t-il, d'être retenues. il nous paraît en effet nécessaire, de revoir certaines questions de *variations locales, variétés, sous espèces* et même *espèces.* Dans certains cas, une étude approfondie, sur un très grand nombre de mousti-

---

(*) Toutes les références avec * se rapportent au Congo.

ques et de diverses provenances, permettra probablement de prendre une décision plus rationelle. A notre avis, un certain nombre de variétés, dont la différentiation avec l'espèce, n'est basée que sur quelques *détails* mineurs morphologiques, tomberont en synonymie et devront figurer dans la variation *normale* ou peut-être *locale* de l'espèce. D'autre part, lorsqu'une différence essentielle de *comportement biologique* est constatée, avec ou sans différences morphologiques, dans certains cas, la création d'une nouvelle variété, nous paraît souhaitable. Les cas s'est présenté pour l'*A. dureni,* dont nous avons parlé dans notre 2me note.

4° --Leleup signale, dans le même gîte de la même grotte, la récolte de deux espèces de « culex » (larves). Il est parfaitement normal de songer d'abord, aux Anophèles, comme vecteurs possibles du parasite malarien constaté dans le sang de chauves-souris, vivants dans la même grotte. Mais les *Culex?* Sur quel animal se nourrissent-ils? Nous pouvons penser, qu'ils se nourrissent *aussi,* sur les chauves-souris, et, sachant que certain *Culex* peuvent, eux aussi être vecteurs de parasites malariens (la découverte de Ross, n'a-t-elle pas été faite sur des *Culex?*), ils méritent, semble-t-il, de ne pas être complètement negligés.

5° - L'A. *faini* paraît n'avoir aucun contact avec l'homme, et les données que nous possèdons, actuellement, tendent à le classer parmi les « *Zoophiles totaux* ». Du point de vue de la transmission de la Malaria humaine, il convient donc de classer, dans la catégorie des « sans aucune importance ».

Distribution hors Congo

L'*A. faini* n'est connu que de la grotte du mont Hoyo.

43) *RODHAINI* Leleup & Lips 1950

(Les renseignements indiqués ci-dessous, remplacent et complètent ceux donnés dans notre Ire note).

Quelques références.	Auteurs Références
* 1950 — Leleup & Lips - *Rev. Zool. Bot. afr. 43:* 303-308	(43)
* 1950 — Leleup - *Rev. Zool. Bot. Afr. 43:* 453-455	(41)
* 1951 — Leleup & Lips - *Rev. Zool. Bot. Afr. 44:* 169-172	(44)
* 1952 — Leleup - *Rev. Zool. Bot. Afr. 46:* 151-158	(127)
1953 — Garnham - *Riv. di Malariol. 32:* 149-154	(119)
* 1954 — Leleup - Conférence Faune & Flore: 372-378 (non consultée)	(128)
1954 — Mattingly & Adam - *Ann. Trop. Méd. Parasitol. 48:* 55-57	(132)
* 1955 — Leleup - *Mém. Soc. Roy. Entom. Belgique. 27:* 361-377	(129)
1956 — Leleup - *Ann. Mus. R. Congo B. - In 8° - Sc. Zool. 46:* 63-65	(42)
1959 — Revue: *La voix de l'orycterope 1,* n. 1 Jadotville.	

Au Congo

1948 - Leleup capture un Anophèle dans la grotte de Kakontwe, près

de Jadotville (Katanga). Ce moustique avait été placé dans de l'alcool, par erreur.

1950 (21 Mai) - Une vingtaine de larves d'Anophèles furent récoltées par le même récolteur, au même entroit.

1950 (6 au 8 Juillet) - Le même récolteur, au même endroit, récolte une quinzaine de larves, dont 8 au IVme stade, qui furent mises en élevage individuel, « in situ », mais sans succès. Une seule nymphe fut obtenue. Une capture d'adultes, à proximité immédiate du gîte larvaire donna: 4 femelles et 2 mâles.

Une courte description de la femelle, du mâle et de larve, est donnée par Leleup & Lips. Les auteurs constatent une certaine variation dans l'aspect de l'aile chez les 4 femelles de capture. Chez les 2 mâles de capture, l'aile est identique à celles de 2 des 4 femelles.

1951 - Leleup, lors d'une nouvelle prospection dans la grotte de Kakontwe, capture quelques nouveaux adultes. Leleup & Lips donnent ensuite, dans une note complémentaire, la description et les dessins du pharynx de la femelle, et de l'harpago et phallosome du mâle.

Remarques

1° - La certitude que les larves décrites, correspondent aux adultes décrits, n'est pas établie, l'élevage individuel n'ayant pas réussi.

2° - La description de la nymphe que les auteurs promettent de donner ultérieurement, n'a pas encore été donnée, actuellement. L'oeuf n'est pas décrit.

3° - La présence, dans cette grotte, de très nombreuses chauves-souris, n'est pas signalée. L'infection de certaines espèces de ces chauves-souris par des parasites malariens, du genre *Hepatocystis*, n'était pas relatée.

1952 - Leleup, dans une courte note sur les Anophèles cavernicoles du Congo (*A. vanhoofi* et *rodhaini*) signale que les frottis de sang de chauves-souris Rhinolophidés et Vespertilionidés, capturées dans la grotte de Kakontwe ont montré des formes de Plasmodium et d'un trypanosome. Comme nous l'avons dit plus haut, le mot « plasmodium » doit être remplacé par l'expression « parasite malarien ». Nous avons examiné quelques frottis de provenance du sang supérficiel des chiroptères de Kakontwe. Les lames positives ne contenaient que des *Hepatocystis*. Pour la détermination exacte de l'espèce d'*Hepatocystis*, il conviendrait d'être en possession des organes, pour la recherche et la description des formes tissulaires.

1955 - Leleup, dans une note sur ses chasses entomologiques, utilise, à nouveau le mot « plasmodium », au lieu de « parasite malarien ».

1956 - Leleup, dans son étude de la faune cavernicole du Congo

dit (page 64): « ... plusieurs exemplaires des deux sexes obtenus d'élevage " in situ ", au départ de larves au dernier stade prénymphal, le 21-4-1950 ». Et plus loin: « L'*A. rodhaini* est le vecteur présumé d'un plasmodium décelé dans le sang d'un *Rhinolophus hildebrandti* Peters. par le Docteur Rodhain.

Comme on l'aura vu plus haut, l'élevage individuel n'a donné *aucun* adulte, et d'autre part, à nouveau, le mot « plasmodium » doit être remplacé par « parasite malarien », probablement *Hepatocystis*.

1959 - Le R.P. Anciaux de Faveaux, F., nous a fait parvenir le Ier numéro d'une nouvelle Revue: « La Voix de l'Oryctérope ». Il s'agit d'un Bulletin de la section spéleologique du Cercle de Panda-Jadotville. Nous y avons trouvé de nombreux renseingements sur les résultats des prospections dans les grottes de Jadotville, y compris celle où l'*A. rodhaini* a été trouvé. A notre demande, le R.P. Anciaux, récoltera des nouvelles observations sur ces Anophèles. Nous avons donc l'espoir de pouvoir obtenir, prochainement, des données suffisantes pour compléter les lacunes qui entourent encore l'*A. rodhaini*.

L'*A. rodhaini*, n'yant aucun contact apparent avec l'homme, ne peut être incriminé de jouer un rôle quelconque dans la transmission de la Malaria humaine.

Distribution hors Congo.

L'*A. rodhaini* n'est connu que de la grotte de Kakontwe, près de Jadotville (Katanga).

52) *VANHOOFI* Wanson & Lebied 1945

Quelques références.	Références Auteurs
* 1945 — Wanson & Lebied - *Rev. Zool. Bot. Afr. 39:* 118-129	(141)
1947 — De Meillon - Anoph. Eth. Geogr. Reg. 89	(14)
* 1950 — Leleup & Lips - *Rev. Zool. Bot. Afr. 43:* 303-308	(43)
* 1950 — Leleup - *Rev. Zool. Bot. Afr. 43:* 353-355	(41)
* 1951 — Leleup & Lips - *Rev. Zool. Bot. Afr. 44:* 169-172	(44)
* 1952 — Leleup - *Rev. Zool. Bot. Afr. 44:* 151-158	(127)
* 1953 — Garnham - *Riv. di Malariol. 32:* 149-154	(119)
* 1954 — Duren - *Ann. Mus. R. Congo B. - In 4° - Sc. Zool. 1:* 360-361	(77)
* 1954 — Leleup - Conférence Faune & Flore: 372-378 (non consultée)	(128)
* 1955 — Leleup - *Mém. Soc. R. Entom. Belgique. 27:* 361-377	(129)
* 1956 — Leleup - *Ann. Mus. R. Col. Belge - In 8° - Sc. Zool. 46:* 63-65	(42)
* 1956 — Leleup - *Notes biospeléologiques, 11:* 77	(130)

Au Congo.

1945 (8 Oct.) - Ce premier Anophèle cavernicole du Congo, fut découvert par Lebied, dans la grande grotte de Thysville (Province de Léopoldville).

Wanson & Lebied, signalent la capture de 2 femelles d'abord, puis de larves et de nymphes. L'élevage individuel, pratiqué hors de la grotte, a permis d'obtenir 4 mâles et 11 femelles. De nombreux détails intéressants sont donnés. La présence, dans cette grotte, de chauves-souris insectivores, appartenant au genre *Miniopterus* (*inflatus*), est signalée. Il a été constaté un certain dimorphisme sexuel dans les tâches des ailes. La description de la femelle, du mâle, de la larve et de la nymphe, est donnée. L'oeuf n'est pas décrit.

Les auteurs déclarent n'avoir jamais été attaqués par ces moustiques, pendant leurs nombreuses prospections et les essais de prises de sang humain des imagos d'éclosion récente, ou datant de 48 heures, ont échoué.

En 1950, Leleup, dans une courte note sur l'éthologie et la dispersion des Anophèles cavernicoles du Congo, relate ses observations (de Mai à Sept. 1949) et déclare avoir constaté la présence de larves d'Anophèles dans des endroits obscurs de la grande grotte et dans 8 autres grottes de Thysville. L'adulte de l'*A. vanhoofi* a été vu, par lui, dans la grande grotte, et dans deux autres grottes.

Des frottis de sang de mégachiroptères et de microchiroptères, dit l'auteur, effectués dans B. 13 a (Grande grotte de Koke) ont révélé l'existence de deux plasmodium différents, actuellement étudiés au centre de recherches du Tanganyika (I.R.S.A.C.), à Uvira.

Nous n'avons pas connaissance d'une publication, ni même d'une prise de date, au sujet de ces deux plasmodium. Il y a donc près de 10 ans que ces plasmodium auraient été découverts dans les grottes de Thysville. Mais, Leleup paraît ignorer que les chauves-souris des grottes de Thysville, avaient été examinées par Wanson et Lebied dès 1945, et que ces chiroptères avaient été trouvés infectés de « parasites malariens ». Ces deux chercheurs n'ont pas publié leurs observations, se réservant pour une étude, éventuelle, ultérieure et approfondie. D'autre part, comme nous l'avons déjà signalé, Garnham ne reconnait qu'un seul Plasmodium *dans le monde,* celui de la chauve-souris *Roussetus leachi* des grottes du mont Hoyo: *Plasmodium roussetti* Van Riel-Hiernaux-L'Hoëst. En conséquence, il est probable que les parasites sanguins signalés par Leleup, sont des parasites malariens du genre *Hepatocystis*. Des recherches nouvelles, plus poussées seraient souhaitables.

1950-1951 - Leleup et Lips, dans deux publications descriptives sur *l'A. rodhaini,* comparent ce dernier avec l'*A. vanhoofi*.

1954 - Duren, dans le livre du Jubilaire H. Schouteden, rappelle l'historique de la découverte de l'*A. vanhoofi* et donne la réproduction d'un dessin en couleurs, exécuté par Vercammen-Grandjean, biologiste, actuellement à Bukavu.

1952 à 1956 - Leleup, dans diverses publications affirme la présence de *Plasmodium* de chauves-souris dans les grottes. Pour les grottes du mont Hoyo, il s'agit du *Plasmodium roussetti,* pour les autres grottes, il s'agit d'une « autre » parasite malarien mais non point d'un plasmodium. Il signale, en 1956 (page 63) que la découverte de l'*A. vanhoofi* fut faite de 8 septembre 1945. Il convient de livre le 8 Oct. 1945. (Grande grotte B7) D'autre part, il signale cet Anophèle, à tous les stades, observés dans les grottes B6-B7-B10-B13a-B13b-B15a-B15e-B17-B19-B23-B26-B28. Les oeufs ont été observés à la surface de petites mares en B13 et B15e. Rappelons que la description des oeufs n'a pas encore été faite. De Nov. 1952 à Janvier 1953, selon Leleup (1956) les *A. vanhoofi* ont été observés dans la grotte BI5f.

Remarque.

L'*A. vanhoofi* n'ayant aucun contact apparent avec l'homme, peut, semble-t-il, actuellement, être rangé parmi les « Zoophiles totaux ».

Nous le classons par conséquent, parmi les Anophèles « sans aucune importance » actuelle, dans la transmission de la Malaria humaine au Congo Belge.

Distribution hors Congo.

L'*A. vanhoofi* n'a été trouvé que dans les grottes de Thysville.

53) *VANTHIELI* Laarman 1959

Il convient de consulter les références données plus haut pour l'*A. rageaui* Mattingly & Adam.

Quelques références.	Références Auteurs
* 1956 — Laarman - *Fol. Sc. Afr. Centr., 2 (4):* 18-19 . .	(120)
* 1956 — Vincke & Laarman - *Folia Sc. Afr. Centr., 2 (2):* 14 .	(140)
* 1956 — Van Den Berghe, Peel, Chardome & Lambrecht - *Fol. Sc. Afr. Centr., 2 (4):* 17	(136)
* 1958 — Laarman - *Fol. Sc. Afr. Centr., 4 (1):* 18 . . .	(121)
	(122)
* 1958 — Laarman - *Acta Leidensia, 28:* 94-98	(123)
* 1958 — Van Den Berghe, Peel, Chardome & Lambrecht - *Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 38:* 971-976	(137)
* 1958 — Van den Berghe, Lambrecht & Zaghi:	
A. - *Fol. Sc. Afr. Centr., 4 (1):* 17	(134)
B. - *Ann. Soc. Belge. Méd. Trop., 38:* 977-981 . .	(135)
* 1958 — Van Den Berghe & Lambrecht - *Bull. Ent. Res. 49:* 291-300	(138)
* 1959 — Laarman - *Trop. Geogr. Medicine, 11:* 147-156 . .	(124)

Au Congo Belge.

1956 - Van den Berghe et collaborateurs, déclarent qu'en 1953 déjà (Van den Berghe et Lambrecht) quelques rares schizontes avaient été trouvés dans le sang du porc-épic de la région de Bunyakiri (Kivu). Après

des recherches systématiques dans la région d'Irangi, une description fragmentaire est donnée.

1956 - Vincke & Laarman signalent une liste de récoltes de moustiques à Irangi.

1956 - Laarman signale des recherches dans les refuges de porc-épics. Des larves et des adultes d'*Anophèles* furent trouvés dans et prés de ces refuges. Il s'agit, dit l'auteur, d'un Anophèle qui systématiquement est sans doute très proche de l'*A. rageaui* connu du Caméroun, mais qui en diffère en certains points. Cet Anophèle est attiré par le porc-épic, d'après les expériences faites au moyen de porc-épics placés en cages près des refuges. Aucune glande ne fut trouvée positive. Le nombre d'examens n'est pas indiqué. L'auteur déclare que cet Anophèle est probablement le vecteur du plasmodium des Athérures (Porc-épics).

1958 - Van den Berghe et collaborateurs signalent et décrivent le plasmodium du porc-épic: *Plasmodium atheruri,* dans diverses pubblications.

1958 - Laarman donne le nom de *A. vanthieli* à l'Anophèle trouvé près des porc-épics, en 1956. Aucune description n'est donnée. La récolte des moustiques à Irangi de 1956 est signalée dans plusieurs publications.

1959 - Laarman donne la description de l'*A. vanthieli.*

Distribution hors Congo.

N'est signalé que du Congo (Irangi-Kivu). Il est à remarquer que l'*A. rageaui* du Caméroun est vraiment très proche de l'*A. vanthieli.* Des observations ultérieures confirmeront ou infirmeront si l'*A. vanthieli* est une espèce réellement distincte et valable.

REMERCIEMENTS — Nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à Monsieur le Docteur W. Bervoets, Médecin Inspecteur des Services d'Hygiène et fondateur du S.E.C.L.A. et à Monsieur le Docteur H. Meyus, Médecin-Directeur du S.E.C.L.A., pour leurs encouragements bienveillants et leur sympathique sollicitude.

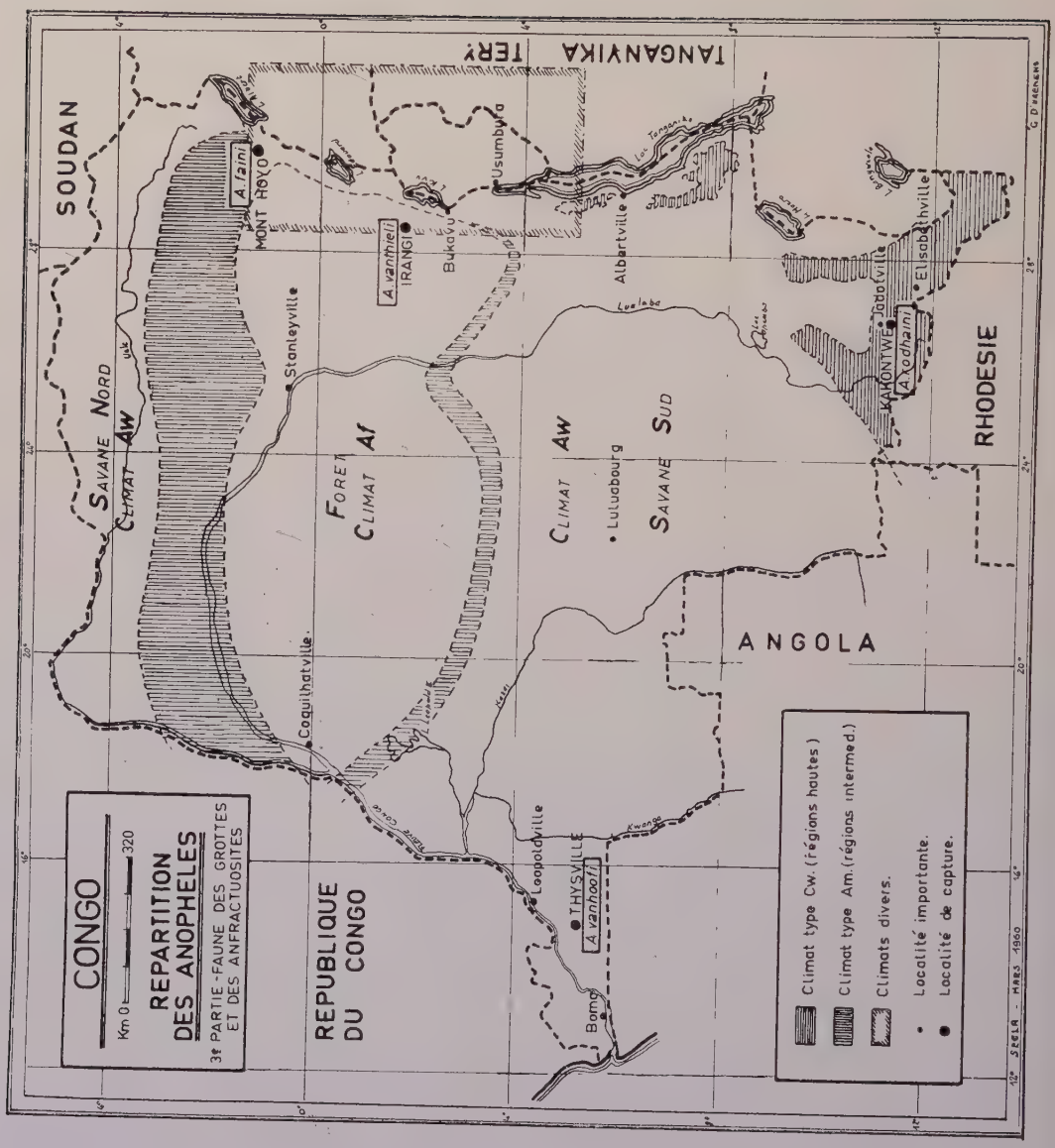
Nos vifs remerciements vont aussi à Monsieurs G. D'haenens, biologiste au S.E.C.L.A., pour son aide et particulièrement pour la confection de la carte.

ANOFELI DEL CONGO. 3. FAUNA DELLE GROTTE ED ANFRATTUOSITA'.

Questa terza nota sugli Anofeli del Congo è dedicata alla specie *A. faini, rodhaini e vanhoofi,* che vivono nelle grotte, a contatto di colonie di pipistrelli, infetti da parassiti malarici, ed a *A.vanthieli,* scoperta questa nelle anfrattuosità che servono di rifugio ai porcospini, infetti da *Plasmodium atheruri*

Sono riportati i dati bibliografici e la storia delle raccolte, nonché alcune osservazioni; e vengono allegati un quadro della distribuzione ed una carta schematica della ripartizione.

Allo stato attuale delle nostre conoscenze, queste quattro anofeli sembra che non partecipino affatto alla trasmissione della malaria umana.


CONGO
Km 0 320
REPARTITION DES ANOPHELES
3e PARTIE - FAUNE DES GROTTES ET DES ANFRACTUOSITES
SOUDAN
TANGANYIKA TERY
SAVANE NORD
CLIMAT AW
FORET
CLIMAT Af
CLIMAT AW
SAVANE SUD
RHODESIE
ANGOLA
REPUBLIQUE DU CONGO
MONT HOYO
A. faini
IRANGI
A. vanthieli
Bukavu
Usumbura
Albertville
Stanleyville
Coquilhatville
Luluabourg
Jadotville
KAKONTWE
A. rodhaini
Elisabethville
Leopoldville
THYSVILLE
A. vanhooti
Boma
Climat type Cw. (régions hautes)
Climat type Am. (régions intermed.)
Climats divers.
Localité importante.
Localité de capture.
SEELA - MARS 1960

CONGO ANOPHELINES. 3. FAUNA OF GROTS AND ANFRACTUOSITIES.

This third note about the Anopheles in the Congo concern, *A. faini, rodhaini* and *vanhoofi*, who lives in subterranean grottoes, in the neighbouroud of bat colonies, infected with Malarian parasites, and *A. vanthieli* discovered in roc anfractuosities used by porcupines, infected with *Plasmodium atheruri.*

References and an historic account with remarks are given. A distribution table and map are added.

This four Anopheles cannot be incriminated to have any participation in the transmission of human Malaria.

TABLEAU DE DISTRIBUTION DE LA FAUNE DES GROTTES ET DES ANFRACTUOSITES
(Voir Carte schématique du Congo)

Lieux	Altitude m.	*Anopheles*	Années	Références
1° Province du Kivu				
Irangi et Foret de l'Est. .	900	N. 53-*vanthieli* Adultes à Larves.	1956-59	Laarman.
2° Province du Katanga				
Kakontwe (Jadotville) . .	1.270	N. 43-*rodhaini* Femelles, Mâles, Larves & Nymphes.	1950	Leleup & Lips.
3° Province de Léopoldville				
Thysville	690	N. 52-*vanhoofi* Femelles, Mâles, Larves & Nymphes.	1945 1950-56	Wanson & Lelied Leleup.
4° Province Orientale				
Hoyo (Mont) - Territ.: Bunia	1.210	N. 15-*faini* Femelles, Mâles, Larves.	1952	Leleup (1951-Fain).

BIBLIOGRAPHIE (*)

(114) ABONNENC E. (1954): Sur un Anophèle cavernicole de la Guinée: *Anopheles cavernicolus* n. sp. (Diptera-Culicidae). Note préliminaire. *Bull. Inst. Franç. Afrique Noire (A), 18:* 802-805. *cavernicolus.*

(115) ABONNENC E. (1954): Sur un Anophèle cavernicole de la Guinée: *Anopheles cavernicolus* n. sp. (Diptera-Culicidae). - *Bull. Mém. Ec. Pharm. Dakar, 2:* 288-290. *cavernicolus.*

(116) ADAM J. P. (1955): Quelques Anophèles nouveaux pour la faune Camérounaise. - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 30:* 389-394. *rageaui.*

(117) ADAM J. P. et MATTINGLY P. F. (1956): Note sur la morphologie et la biologie de l'*A. (Neomyzomya) smithi* var. *rageaui* Mattingly & Adam 1954. - *Bull. Soc. Path. Exot., 49:* 734-747. *rageaui.*

(14) DE MEILLON (1947). *vanhoofi*

(118) DOBY J. M. & MOUCHET J. (1957): Ecologie larvaire de quelques espèces de Culicidés dans la région de Yaounde (Sud Caméroun). *Bull. Soc. Path. Exot., 50:* 945-957. *rageaui.*

(77) DUREN (1954). *vanhoofi.*

(119) GARNHAM P. C. C. (1953): Types of Bat Malaria. - *Riv. di Malariol., 32:* 149-154. *Parasites malariens.*

(34) HAMON, ADAM & GRJEBINE (1956). *rageaui.*

(120) LAARMAN J. (1956): Un anophèle nouveau pour le Congo Belge. - *Folia Scient. Afr. Centr., 2 (4):* 18-19. *rageaui - vanthieli.*

(121) LAARMAN J. (1958): Culicidae d'Irangi. - *Folia Scient. Afr. Centr., 4 (1):* 18. *vanthieli.*

(*) 1re Partie: du numéro 1 à 71; 2me Partie: du numéro 72 à 113. Nous signalons, en abrégé, les références

(122) LAARMAN J. (1958): *Anopheles (Neomyzomya) vanthieli* n. sp.
(123) LAARMAN J. (1958): *Acta Leidensia 28:* 94-98. *vanthieli.*
(124) LAARMAN J. (1959): A New species of Anophèles from a rain forest in Eastern Belgian Congo. - *Trop. & Geogr. Medicine, 11:* 147-156.
(125) LANGUILLON J., MOUCHET J., RIVOLA E., & RATEAU J. (1956): Contribution à l'étude de l'épidémiologie du Paludisme dans la région forestière du Cameroun. - *Med. Trop., 16:* 347-378. *rageaui.*
(126) LANGUILLON J. (1957): Note sur deux parasites sanguicoles des mammifères du Cameroun. - *Bull. Soc. Path. Exot., 50:* 362-363 (sang porc-épic). *rageaui.*
(41) LELEUP (1950). *rodhaini - vanhoofi.*
(127) LELEUP N. (1952): Un Anophèle cavernicole nouveau du Kibali-Ituri: *Anopheles faini* n. s. - *Rev. Zool. Bot. Afr., 46:* 151-158. *faini - rodhaini - vanhoofi.*
(128) LELEUP N. (1954): La faune cavernicole du Congo Belge. - Conférence Faune & Flore: 372-378. *faini - rodhaini - vanhoofi.*
(129) LELEUP N. (1955): Chasses entomologiques dans les biotopes spéciaux au Congo Belge. - *Mém. Soc. Roy. Entom. Belgique, 27:* 361-377. *faini - rodhaini - vanhoofi.*
(130) LELEUP N. (1956): Description de deux grottes du Bas-Congo. - *Notes biospéleologiques, 11:* 73-80. *vanhoofi.*
(42) LELEUP (1956). *faini - rodhaini - vanhoofi.*
(43) LELEUP & LIPS (1950). *rodhaini - vanhoofi.*
(44) LELEUP & LIPS (1951). *rodhaini.*
(131) LIPS M. & RODHAIN J. (1956): Quelques hématozoaires de petits mammifères du Haut-Katanga. - *Ann. Parasitol. Hum. Comp., 31:* 481-488. Parasites sanguins.
(132) MATTINGLY P. F. & ADAM J. P. (1954): A New species of cave dwelling Anopheline from the Frech Cameroun. - *Ann. Trop. Med. Parasitol., 48:* 55-57. *faini - rageaui— - rodhaini - vanhoofi.*
(133) MOUCHET J., GARIOU J. & RIVOLA E. (1957): Observations sur la biologie d'*Anopheles smithi* var. *rageaui* Matt. & Adam, vecteur d'un plasmodium de mammifère aux environs de Yaoundé (Sud-Caméroun). - *Bull. Soc. Path. Exat., 50:* 157-164. *rageaui* - Parasite sanguin.
(134) VAN DEN BERGHE L., LAMBRECHT P. L. & ZAGHI A. (1958): Recherche du cycle sexué de *Plasmodium atheruri* n. sp. - *Folia Scient. Afr. Centr., 4 (1):* 17-18. *vanthieli.*
(135) VAN DEN BERGHE L., LAMBRECHT P. L. & ZAGHI A. (1958): Démonstration du cycle sexué de *Plasmodium atheruri* n. sp., au Congo Belge. - *Ann. Soc. Belge. Méd. Trop., 38:* 977-981. *vanthieli.*
(136) VAN DEN BERGHE L. & LAMBRECHT P. L. (1958): *Bull. Ent. Res. 49:* 391-300. *vanthieli.*
(137) VAN DEN BERGHE L., PEEL E., CHARDOME M. & LAMBRECHT P. L. (1956): *Plasmodium atheruri* n. sp. du Porc-épic *Atherurus africanus centralis* au Congo Belge. - *Fol. Sc. Afr. Centr., 2 (4):* 17. *vanthieli.*
(138) VAN DEN BERGHE L., PEEL E., CHARDOME M. & LAMBRECHT P. L. (1958): Le cycle séxué de *Plasmodium atheruri* n. sp. du Porc-épic, *Atherurus africanus centralis au Congo Belge. - Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 38:* 971-976. *vanthieli*
(139) VAN RIEL & D. et J. HIERNAUX-L'HOEST (1951): Description of a plasmodium found in a bat, *Roussettus leachi. - Parasitol., 41:* 270-273. Parasite sanguin de chauve-souris.
(140) VINCKE I. & LAARMAN J. (1956): *Fol. Sc. Afr. Centr., 2 (2):* 14. *vanthieli.*
(141) WANSON M. & LEBIED B. (1945): Un nouvel Anophèle cavernicole du Congo Belge: *Anopheles (Myzomya) vanhoofi* n. sp. *Rev. Zool. Bot. Afr., 39:* 118-129. *vanhoofi.*

ANNEXE I

ANOPHELES DU CONGO - LISTE ALPHABETIQUE

(S.E.C.L.A. 31-12-1959)

Dans notre 1re note nous avons donné une liste de 58 Anopheles signalés au Congo et établie au 31-12-1958.

Nous donnons ci-après la liste établie le 31-12-1959. Elle corrige et

complète la liste antérieure. Nous avons ajouté 7 noms. Le nombre total des Anophèles du Congo est par conséquent de 65.

4 *bis* - *A. bervoetsi* D'Haenens 1960, ssp. d'*A.moucheti.*

Nouvel Anophèle découvert au Kwango (Province de Léopoldville) et décrit dans la Revue d'Entomologie de Belgique (1960-sous presse).

9 *bis* - *A. confusus* Evans & Leeson 1935, var. de *funestus.*

A été trouvé en 1941-42 à Jadotville et Elisabethville par Vincke. Ce n'est qu'en 1959 que nous trouvons pour la première fois une allusion à la présence de cet Anophele au Congo, dans une publication (Vincke 1959 - *Riv. di Parassitologia*). Cette récolte fut confirmée par les recherches de Van Braeckel, De Graeve et Lips en 1959, aux étangs de la Kilobelobe, près d'Elisabethville.

21 *bis* - *A.henrardi* Wolfs 1945, var. d'*implexus.*

Cette variété ne figure pas sur notre liste antérieure. Elle avait été réduite à une « variation locale » par De Meillon en 1947. Nous remettons cette variété sur notre liste étant donné que les différences morphologiques signalées par Wolfs se superposent à une difference biologique. L'étude de cet Anophèle n'est d'ailleurs pas terminée et nous espérons, ultérieurement, pouvoir confirmer ou infirmer la validité de cette variété.

22 *bis* - *A. ingrami* Edwards 1929, var. de *rufipes.*

Cet Anophèle a été signalé au Congo par De Meillon & Lavoipierre en 1944 (*Jl. Ent. Soc. Sthrn. Afr.*, 7 : 38-67). Des adultes furent récoltés par le Docteur Jansens à Mongbwalu (Province Orientale-Kibali Ituri).

22 *tris* - *jebudensis* Froud 1944.

Dans Vincke & Laarman 1956 (*Fol. Sc. Afr. Centr.* 2 (2): 14), à Irangi (Kivu).

30 *bis* - *A. millecampsi* Lips 1960, var. d'*A. dureni.*

D'après notre 2me note.

51 *Bis* - *A. upemba* n. sp., Mattingly 1955.

Nous désignons provisoirement cette nouvelle espèce sous la dénomination sus-mentionnée, afin de pouvoir la classer par ordre alphabétique dans notre liste. Mattingly dans sa publication originale de 1955 a refusé de nommer cette espèce parce que l'exemplaire qu'il avait sous les yeux était abimé et incomplet. Il déclare pourtant clairement qu'il s'agit d'une espèce nouvelle et c'est la raison pour laquelle nous sommes obligés de la mentionner.

Les trois Anophèles indiqués ci-dessous sont tombés en synonymie:

(1) *entebbiensis* Evans 1938, var. de *squamosus* = *cydippis*

(2) *nowlini* Evans 1932, var. d'*obscurus* = *obscurus*.

Nous notons que cette variation de l'*obscurus* fut récoltée à Mongbwalu par le Docteur Jansens et à Yangambi par le Docteur Parent (De Meillon & Lavoipierre 1944 - *Jl. Ent. Soc. Sthrn. Afr.*, 7: 47).

(3) *pitchfordi* Giles 1904, var. de *marshalli* = *marshalli*.

Corrigenda.

(1) *A. schwetzi* Evans 1934.

D'après l'étude de Peters (Proc. Roy. Ent. Soc. Lond (B), 24 : 95), cette espèce doit être considérée comme variété de l'*A. walravensi*.

(2) *A. vanthieli* Laarman 1959.

Précédement nous avions indiqué 1958. Il convient de lire 1959: la véritable description n'ayant été faite qu'en cette année (*Trop. & Geogr. Med. II*: 148-156).

LISTE AU 31-12-1959

1.	*Ardensis*	Theobald	1905:	
2.	*Argenteolobatus*	Gough	1910:	
3.	*Austeni*	Theobald	1905:	
4.	*Berghei*	Vincke & Leleup	1949:	
4 bis.	*Bervoetsi*	D'haenens	1960:	ssp. de *moucheti*
5.	*Brunnipes*	Theobald	1910:	
6.	*Caliginosus*	De Meillon	1943:	ssp. de *coustani*
7.	*Christyi*	Newstead & Carter	1911:	
8.	*Cintus*	Newstead & Carter	1910:	
9.	*Concolor*	Edwards	1938:	
9 bis.	*Confusus*	Evans & Leeson	1935:	var. de *funestus*
10.	*Coustani*	Laveran	1900:	
11.	*Cydippis*	De Meillon	1931:	var. de *squamosus*
12.	*De Meilloni*	Evans	1938:	
13.	*Distinctus*	Newstead & Carter	1911:	
14.	*Dureni*	Edwards	1938:	
15.	*Faini*	Leleup	1952:	
16.	*Funestus*	Giles	1900:	
17.	*Gambiae*	Giles	1903:	
18.	*Garnhami*	Edwards	1930:	
19.	*Gibbinsi*	Evans	1935:	var. de *marshalli*
20.	*Hancocki*	Edwards	1929:	
21.	*Hargreavesi*	Evans	1927:	
21 bis.	*Henrardi*	Wolfs	1945:	var. d'*implexus*
22.	*Implexus*	Theobald	1903:	
22 bis.	*Ingrami*	Edwards	1929:	var. de *rufipes*
22 tris.	*Jebudensis*	Froud	1944:	
23.	*Keniensis*	Evans	1931:	
24.	*Kingi*	Christophers	1923:	
25.	*Leesoni*	Evans	1931:	
26.	*Longipalpis*	Theobald	1912:	
27.	*Maculipalpis*	Giles	1902:	
28.	*Marshalli*	Theobald	1903:	
29.	*Melas*	Theobald	1903:	var. de *gambiae*
30.	*Michaeli*	De Meillon & Leeson	1940:	
30 bis.	*Millecampsi*	Lips	1960:	var. de *dureni*
31.	*Mortiauxi*	Edwards	1938:	

32.	*Moucheti*	Evans	1925:	
33.	*Moushinoi*	De Meillon & Pereira	1940:	var. de *marshalli*
34.	*Multicinctus*	Edwards	1930:	var. de *natalensis*
35.	*Natalensis*	Hill & Haydon	1907:	
36.	*Nili*	Theobald	1904:	
37.	*Obscurus*	Grünberg	1910:	
38.	*Paludis*	Theobald	1900:	
39.	*Pharoensis*	Theobald	1901:	
40.	*Pretoriensis*	Theobald	1903:	
41.	*Rhodesiensis*	Theobald	1901:	
42.	*Rivulorum*	Leeson	1935:	
43	*Rodhaini*	Leleup & Lips	1950:	
44.	*Rufipes*	Gough	1910:	
45.	*Schwetzi*	Evans	1934:	var. de *walravensi*
46.	*Seydeli*	Edwards	1929:	var. de *hancocki*
47.	*Squamosus*	Theobald	1901:	
48.	*Symesi*	Edwards	1928:	
49.	*Tenebrosus*	Dönitz	1902:	
50.	*Theileri*	Edwards	1912:	
51.	*Ugandae*	Evans	1934:	var. de *distinctus*
51 bis.	*Upemba n. sp.*	Mattingly	1955:	
52.	*Vanthieli*	Laarman	1959:	
53.	*Vanhoofi*	Wanson & Lebied	1945:	
54.	*Vinckei*	De Meillon	1942:	
55.	*Walravensis*	Edwards	1930:	
56.	*Walshi*	Evans & De Meillon	1935:	var. de *garnhami*
57.	*Wellcomei*	Theobald	1904:	
58.	*Ziemanni*	Grünberg	1902:	var. de *coustani*

ANNEXE II

ANOPHELES DU CONGO - LISTE PROVISOIRE DES RECOLTEURS (L) & AUTEURS (A)

Dans notre 1re note, nous nous sommes occupés des Anophèles particulaires du Katanga: *ardensis, argenteolobatus, austeni, berghei, caliginosus, leesoni, michaeli, moushinoi, rivulorum, rodhaini, schwetzi, ugandae, walravensi* et *wellcomei.*

Dans une 2me note, sur quelques Anophèles des galeries forestières, nous avons parlé de: *concolor, dureni, implexus* et *mortiauxi.* Nous y avons ajouté: *millecampsi.*

Dans la présente note, la 3me, il s'agit d'Anophèles cavernicoles et des anfractuosités: *faini, rodhaini, vanhoofi* et *vanthieli.*

Nous donnons ci-dessous la liste des récolteurs (R) et auteurs (A) par ordre alphabétique:

N.	NOMS	R.	A.	ANNÉES		NOTES 1re	2me	3me
1.	Basselet, Dr.	R.	—	1956	—	—	1	—
2.	Baumann	R.	A.	1947	—	—	2	—
3.	Bequaert, J. Dr.	R.	A.	1910	1913	1	—	—
4.	Berteaux, Marcel	—	A.	1945	1954	—	3	—
5.	Beyns, Yan, Dr.	R.	—	1950	—	—	4	—
6.	Bouillon, R. P.	R.	A.	1953	—	—	5	—
7.	Braibant, Dr.	R.	—	1949	1950	2	6	—
8.	Cahay	R.	—	1951	—	—	7	—
9.	De Graeve, Roland	R.	—	1959	—	—	—	1
10.	Chardome, Marcel	—	A.	1956	1958	—	—	2

N.	NOMS	R.	A.	ANNEES		NOTES Ire	2me	3me
11.	De Meillon, Botha	—	A.	1947	1951	3	—	—
12.	De Meulenaere	R.	A.	1944	1945	—	8	—
13.	D'haenens, Guy	R.	—	1959	——	—	9	—
14.	Doucet, Dr.	R.	—	1938	——	—	10	—
15.	Duren, A., Dr.	R.	A.	1938	1954	4	11	3
16.	D'Ursel, Dr.	R.	—	1943	——	—	12	—
17.	Edwards	—	A.	1938	1941	—	13	—
18.	Evans, Alwen (Miss)	—	A.	1938	——	—	14	—
19.	Fain, A., Dr.	R.	A.	1948	1951	5	—	4
20.	Fort	R.	A.	1947	——	—	15	—
21.	Hamon, Jacques	—	A.	1955	——	6	—	—
22.	Henrard, Constant	R.	A.	1935	1948	7	16	—
23.	Jadin, Dr.	R.	A.	1945	1946	8	17	—
24.	Jansens, Dr.	R.	—	1946	——	—	18	—
25.	Kosamu Jacob	R.	—	1959	——	—	19	—
26.	Laarman, J. J.	R.	A.	1956	1959	—	—	5
27.	Lambrecht	R.	A.	1952	1958	—	20	6
28.	Lebied, Ber.	R.	A.	1945	——	—	—	7
29.	Lefébure, R. P.	R.	—	1948	1949	—	21	—
30.	Leleup, Narcisse	R.	A.	1949	1956	9	22	8
31.	Lips, Marcel	R.	A.	1945	1959	10	23	9
32.	Lupola Alphonse	R.	—	1959	——	—	24	—
33.	Mattingly	—	A.	1949	——	—	25	—
34.	Melsens	R.	—	1959	——	—	26	—
35.	Meyus, H. Dr.	R.	—	1959	——	—	27	—
36.	Millecamps	R.	—	1943	——	—	28	—
37.	Mortiaux	R.	—	1937	1938	—	29	—
38.	Noël	R.	—	1938	——	—	30	—
39.	Parent, Marcel, Dr.	R.	A.	1944	1945	—	31	—
40.	Peel	—	A.	1956	1958	—	—	10
41.	Peeters Edmond, Dr.	R.	A.	1953	——	—	32	—
42.	Pons	R.	A.	1910	1913	11	—	—
43.	Rodhain, J. Dr.	R.	A.	1910	1952	12	33	—
44.	Roelens	R.	—	1927	——	—	34	—
45.	Schouteden, Henri, Dr.	R.	A.	1920	1952	13	35	—
46.	Schwetz J. Dr.	R.	A.	1925	1948	14	36	—
47.	Seydel, Charles	R.	A.	1929	——	15	37	—
48.	Sottiaux	R.	A.	1939	——	—	38	—
49.	Van Braeckel, Dr.	R.	—	1959	——	—	—	11
50.	Van den Berghe, Louis, Dr.	—	A.	1954	1958	—	39	12
51.	Van den Branden, Dr.	R.	A.	1910	1913	16	—	—
52.	Van den Bulcke, Marcel	R.	—	1948	1951	—	40	—
53.	Van der Auwera	R.	—	1959	——	—	41	—
54.	Van Wymeersch, Dr.	R.	A.	1938	1944	—	42	42
55.	Verhaeghen	R.	—	1939	——	—	43	—
56.	Verhousstraete	R.	—	1949	1953	—	44	—
57.	Vincke Ignace, Dr.	R.	A.	1941	1956	17	45	13
58.	Walravens, Dr.	R.	A.	1929	——	18	46	—
59.	Wanson, Marcel, Dr.	—	A.	1944	1954	—	47	14
60.	Wolfs, J.	R.	A.	1945	——	—	48	—
61.	Zaghi, Antoine	R.	A.	1956	1958	—	—	15

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXI - N. 4 - Dicembre 1960

INDAGINE SUI CASI DI LATRODECTISMO VERIFICATISI NEGLI ANNI DAL 1938 AL 1953 IN ALCUNE PROVINCE D'ITALIA - NOTA III - PROVINCIA DI ROMA

SERGIO BETTINI (*)

Vengono qui riportati ed analizzati i dati relativi ai casi di latrodectismo ricoverati negli ospedali ed infermerie della Provincia di Roma (eccettuati gli ospedali urbani) durante gli anni dal 1938 al 1958. E' stato messo in evidenza, fra l'altro, che l'andamento dei casi di latrodectismo presenta un considerevole aumento negli anni 1947-48, con una punta massima nel 1948. E' stato segnalato per la Provincia un caso letale di latrodectismo (di cui non si hanno tuttavia i dati nosografici).

Nella prima nota (2) di questa serie, oltre i dati riguardanti la Provincia di Viterbo, è stata riportata la letteratura sulle epidemie di latrodectismo verificatesi nei vari paesi sin dai tempi remoti, ed è stato inoltre descritto il metodo di ricerca seguito, al quale si rimanda il lettore. Nella seconda nota (3) sono stati riportati i dati riguardanti la Provincia di Grosseto.

Non sono nuove nella Provincia di Roma le segnalazioni di casi di latrodectismo, anzi si può dire che essa sia la Provincia per la quale nella letteratura sono stati riportati il maggior numero di casi di latrodectismo. Paganelli (7) ne descrive 9 casi nel 1937 (senza tuttavia indicare se tutti i casi si riferivano a quell'anno o a precedenti). Gennari (4), nel suo lavoro sulla sindrome addominale da morso di aracnide, riporta che nelle stagioni estive degli anni 1948-49 furono ricoverati 15 casi nell'Ospedale di S. Spirito in Roma, Giuliani (5) nella sua indagine sulla distribuzione di *Latrodectus tredecimguttatus* nel Lazio così si esprime: « Una inchiesta sommaria preliminare da noi seguita nella Provincia di Roma ci aveva rivelato che, nelle regioni del litorale e particolarmente nei mesi estivi, il numero dei casi di araneismo sale a molte decine e che la malattia assume di regola gravità così evidente da imporre il ricovero in ospedale ». Recentemente Pampiglione (8) descrive 4 nuovi casi osservati nel Comune di Cerveteri e segnala 43 casi verificatisi in detto Comune negli anni dal 1934 al 1958. Bettini (1), infine, in uno studio sulla distribuzione dei casi di latrodectismo in Italia durante gli anni 1949-51, segnala un totale di 33 casi occorsi nella Provincia di Roma.

(*) *Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma.*

IL LATRODECTISMO NELLA PROVINCIA DI ROMA

I - *Caratteristiche geografiche della Provincia.*

La Provincia di Roma è divisa verso circa la sua metà dalla vallata del Tevere. Nella porzione settentrionale si trova il lago di Bracciano circondato da basse colline che degradano verso Roma e verso il mare, mentre i Monti della Tolfa le dividono da Civitavecchia. La porzione meridionale comprende ad Est una zona montana ed i colli Albani, e verso il mare la Campagna Romana. Questa, unita alla fascia costiera che da Civitavecchia raggiunge Anzio, costituisce il territorio pianeggiante della Provincia.

II - *Esame dei risultati e discussione.*

Dalla presente inchiesta sono stati esclusi gli Ospedali della città di Roma poiché si è ritenuto che i soli istituti ospedalieri al di fuori del limite della città avrebbero potuto dare un valido indice dell'incidenza dei casi di latrodectismo nell'intera Provincia. D'altra parte, l'indagine negli ospedali della città avrebbe comportato lo spoglio di un numero altissimo di registri per un numero esiguo (come può essere valutato dalla precedente letteratura) di casi di latrodectismo.

Nell'inchiesta effettuata negli ospedali ed infermerie della Provincia solo alcuni di essi sono risultati positivi per casi di latrodectismo, e cioè quelli di Civitavecchia, di Bracciano e di Velletri (Tabella 1). Si tratta di istituti ospedalieri situati, o in pianura lungo la fascia costiera (Civitavecchia), o in collina (Bracciano), o comprendenti nel loro territorio anche una vasta zona di pianura (Velletri).

TABELLA 1

Ospedali ed infermerie della Provincia di Roma positivi per casi di latrodectismo durante gli anni dal 1938 al 1958. (Sono esclusi gli istituti ospedalieri della città di Roma).

Sede	Denominazione	Categoria	N. posti letto	N. abitanti del comune (*)
Civitavecchia	Ospedale Civile	III	147	32.870
Bracciano	» »	Infermeria	50	7.123
Velletri	» »	III	60	34.895

(*) Censimento del 1951.

La distribuzione dei casi di latrodectismo corrisponde grosso modo alla distribuzione di *L.tredecimguttatus*, come riportato da Giuliani (5). Mentre tuttavia questo A. segnala che la specie non raggiunge la città di Roma, e la Valle Tiberina a Nord della città, casi di latrodectismo sono stati riportati da Fiano Romano (6), ed esemplari di *L.tredecimguttatus* sono stati raccolti dall'A. della presente nota nella zona della Via Nomentana (INCOM) al confine della città.

I numerosi casi segnalati da Pampiglione (8) a Cerveteri sono stati in parte ricoverati in ospedale, quindi sono compresi nei casi qui ripor-

TABELLA 2

Totale dei ricoverati per punture o per morsi di animali velenosi negli ospedali ed infermerie della Provincia di Roma (positivi per casi di latrodectismo) negli anni dal 1938 al 1958. (Sono esclusi gli istituti ospedalieri della città di Roma).

Ospedale o infermeria (sede)	Punture o morsi di Artropodi																					
	Morsi di *L. tredecimguttatus*																Punt. di Imenotteri	Punt. di scorpioni	Morsi di serpenti		Casi a + b + c relativi a 1.000 degenti	Casi a + b + c relativi a 1.000 abitanti del Comune
	Altamente probabili (a)				Probabili (b)				Poco probabili (c)				(a) + (b) + (c)									
	♂	♀	N. totale	%	♂	♀	N. totale	%	♂	♀	N. totale	%	♂	♀	N. totale	%	N. totale	N. totale	N. totale	%		
Bracciano . .	4	0	4	5,1	11	2	13	21,7	1	1	2	5,2	16	3	19	11,0	1	1	10	20	2,20	3,7
Civitavecchia.	47	5	52	70,3	35	9	44	73,3	14	3	17	44,8	96	17	113	65,8	0	0	9	18	3,05	2,9
Velletri . . .	12	6	18	24,3	2	1	3	5,0	17	2	19	50,0	31	9	40	23,2	8	0	31	62	1,34	0,8
Totali . . .	63	11	74		48	12	60		32	6	38		143	29	172		9	1	50			
%	85	15			80	20			84	16			83	17								

tati, ed in parte sono stati trattati a domicilio. I 15 casi riportati da Gennari (4), ricoverati nell'Ospedale di S. Spirito in Roma non sono stati riportati poiché né di questi, né di altri casi probabilmente numerosi, occorsi in altri Comuni si hanno i dati nosografici. E' opportuno tuttavia segnalare questo fatto per sottolineare che i casi ricoverati negli ospedali extra-urbani non sono necessariamente la totalità di quelli verificatisi nella Provincia.

Nella Tab. 2 è riportato il totale dei ricoverati per punture e morsi di animali velenosi negli ospedali ed infermerie della Provincia di Roma, positivi per latrodectismo, dal 1938 al 1958. In essa si osserva che il numero complessivo dei casi di morsi o punture di Artropodi (182 casi) è più di tre volte più alto del numero dei casi di morso di serpente (50 casi). Tuttavia queste cifre non sono assolute se si considera che un certo numero di casi di punture di insetti o scorpioni, o morsi di vipera, potrebbero essere stati ricoverati, nello stesso periodo, in ospedali o infermerie negativi per morsi di *Latrodectus* e quindi non inclusi in questo studio. Inoltre, il numero dei casi di punture di Imenotteri (9 casi) e di punture di scorpioni (1 caso) è molto basso rispetto al numero dei casi ricoverati per morso di *Latrodectus* ripartiti nei tre sottogruppi a seconda del grado di attendibilità che si è arbitrariamente voluto loro assegnare. Poiché fra i casi di latrodectismo appartenenti al sottogruppo

TABELLA 3

Totale delle degenze (medicina e chirurgia) registrate nei vari ospedali ed infermerie della Provincia di Roma (positivi per casi di latrodectismo) negli anni dal 1938 al 1958. (Sono esclusi gli istituti ospedalieri della città di Roma)

Infermerie o ospedali	1938	1939	1940	1941	1942	1943	1944	1945	1946	1947	1948
Bracciano	—	334	544	647	715	665	425	310	306	275	320
Civitavecchia	782*	796*	1999	2182	2287	1062	927	1149	1445	1845	1453
Velletri	1187	1114	1101	1140	1118	1424	1646	1212	1613	1409	1381
Totale			3644	3969	4120	3151	2998	2671	3364	3529	3154

Infermerie o ospedali	1949	1950	1951	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	Totale
Bracciano	291	206	385	340	349	444	478	472	579	527	8.612
Civitavecchia	1991	1731	1968	2043	1921	1841	1860	2442	2933	3131	36.988
Velletri	1476	1298	1098	1117	1145	1548	1778	1921	1935	1982	29.673
Totale	3758	3235	3451	3500	3415	3833	4116	4835	5447	5640	75.273

* solo maschi

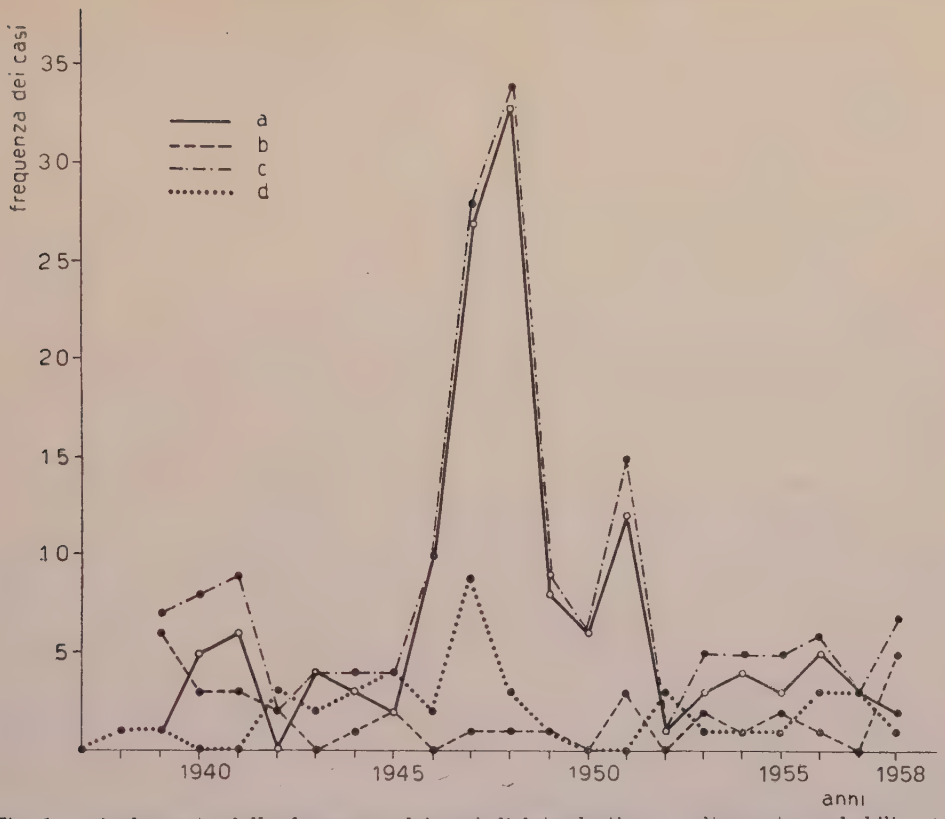


Fig. 1 — Andamento della frequenza dei casi di latrodectismo « altamente probabili » + « probabili » *(a)*, « poco probabili » *(b)*, ed « altamente probabili » *(c)*, ricoverati negli ospedali (o infermerie) di Bracciano, Civitavecchia e Velletri durante gli anni dal 1939 al 1958. Andamento del latrodectismo nella zona di Cerveteri, secondo Pampiglione (6) (vedi testo), dal 1938 al 1958.

« poco probabili » possono essere inclusi casi di punture di Imenotteri, è logico sospettare che il reale numero totale di questi casi sia in effetti superiore alle 9 unità segnalate.

Del gruppo dei ricoverati per morso di *Latrodectus*, il sottogruppo più numeroso è quello dei casi « altamente probabili » (74 casi). Seguono i casi « probabili » (60) (*) e quelli « poco probabili » (38) (**).

Relativamente costante è il rapporto sessi nei pazienti dei tre sottogruppi (15% - 20% - 16%), e sempre in favore dei maschi.

La frequenza dei ricoverati per morsi di *Latrodectus* (totale dei casi secondo i vari gradi di probabilità) è molto più alta per l'ospedale di Civitavecchia (66% dei casi) che non per l'ospedale di Velletri (23%)

(*) Di questi, solo 2 casi (3,3%) appartengono alla suddivisione 3 dello Schema A quelli cioè per cui l'esame della cartella clnica poteva lasciare dubbi sulla diagnosi di latrodectismo riportata dal sanitario.

(**) Di questi, 12 casi (31,6%) appartengono alla suddivisione 2 dello Schema A, quelli cioè, controllati nelle cartelle cliniche, che decisamente non presentavano la sintomatologia propria del latrodectismo.

e per l'infermeria di Bracciano (11%). Se i casi tuttavia vengono riferiti al numero totale delle degenze dei singoli istituti ospedalieri, l'ordine di frequenza sarebbe il seguente: Civitavecchia, Bracciano e Velletri (vedi Tab. 2, colonna 21ª e Tab. 3). Mentre, se gli stessi casi vengono riferiti al numero degli abitanti dei Comuni ove hanno sede gli istituti ospedalieri stessi, l'ordine risulterebbe il seguente: Bracciano, Civitavecchia e Velletri (v. Tab. 2, colonna 22ª e Tab. 1).

La frequenza più alta dei morsi di serpenti si è riscontrata per Velletri (62% dei casi), seguita da Bracciano (20%) e Civitavecchia (18%). Anche in questa Provincia, come già riscontrato per Viterbo (1), la frequenza dei casi dei morsi di serpenti è minore ove maggiore è la frequenza dei casi di latrodectismo.

Il numero totale dei ricoverati per morsi o punture di Artropodi (per gli ospedali presi in considerazione nel periodo dal 1938 al 1958) rappresenta il 0,23% del numero totale dei ricoveri (75.273), mentre i morsi di *Latrodectus* (casi « altamente probabili » + « probabili ») rappresentano il 0,18%. Il totale delle giornate di ricovero, per i casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo è stato di 453, mentre per i casi « poco probabili » è stato di 80.

L'andamento dei casi di latrodectismo negli istituti ospedalieri della Provincia durante il periodo compreso fra il 1938 ed il 1958 è illustrato dal grafico della Fig. 1. In essa si nota che i casi di latrodectismo « altamente probabili » + « probabili » aumentano considerevolmente di numero negli anni 1947-48 (Fig. 1, *a*), con un massimo nel 1948. La curva dei casi « poco probabili » invece si mantiene ad un livello pressoché costante durante

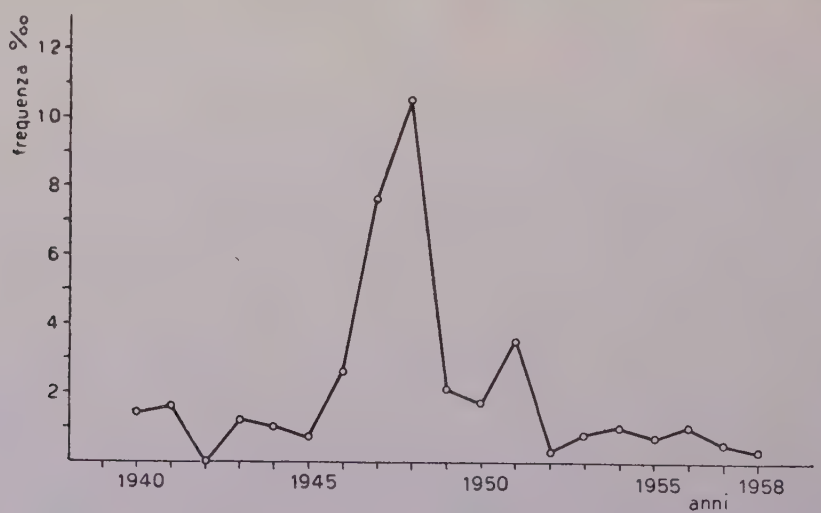


Fig. 2 — Numero dei casi di latrodectismo « altamente probabili » + « probabili » riferiti a 1.000 ricoverati negli ospedali ed infermerie della Provincia di Roma negli anni dal 1950 al 1958.

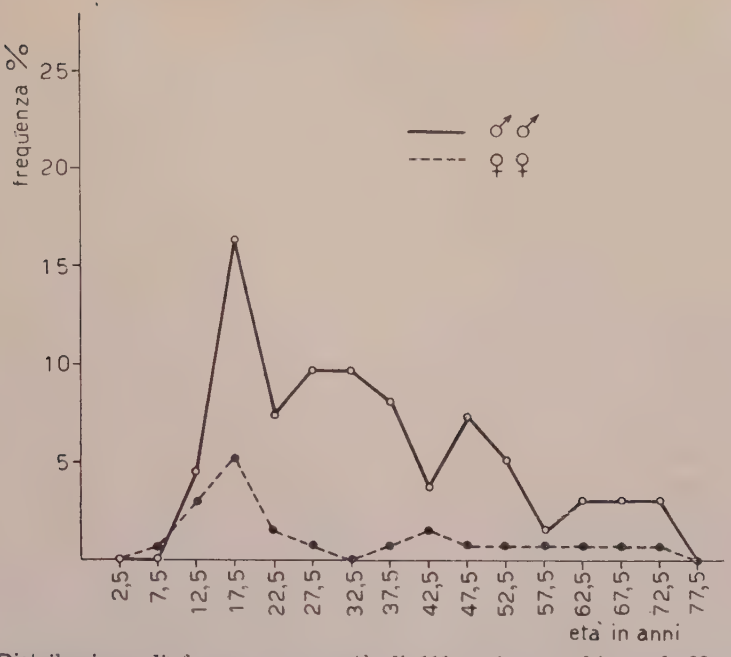


Fig. 3 — Distribuzione di frequenza per età di 111 casi « maschi » e di 23 casi « femmine » di latrodectismo (« altamente probabili » + « probabili ») ricoverati negli ospedali ed infermerie della Provincia di Roma negli anni dal 1938 al 1958. (Sono esclusi gli ospedali della città di Roma).

tutto il periodo in esame (Fig. 1, *b*). Quindi l'andamento dei casi di latrodectismo (totale dei casi secondo i vari gradi di attendibilità) (Fig. 1, *c*) non è sostanzialmente diverso da quello osservato per i casi « altamente probabili » + « probabili ». Nella Fig. 1 è anche rappresentato il grafico *d* sviluppato sui datti riportati da Pampiglione (8) per la zona di Cerveteri. Questi dati comprendono sia i casi ricoverati pressi i vicini istituti ospedalieri, sia i casi trattati a domicilio. Anche per questo grafico la frequenza dei casi presenta un aumento notevole per l'anno 1947.

Se il numero dei casi « altamente probabili » + « probabili » dei singoli anni viene riferito al totale delle degenze annuali complessive si ottiene il grafico della Fig. 2 che è perfettamente sovrapponibile alla curva *a* della Fig. 1.

Il considerevole aumento della frequenza dei casi nel periodo 1947-48 nella Provincia di Roma trova una relativa corrispondenza nell'andamento della frequenza del latrodectismo delle Province di Viterbo (2) (punta massima nel 1947) e di Grosseto (3) (punta massima nel 1950). Il fenomeno sarà dettagliatamente riportato e valutato in altra nota.

La Fig. 3 (distribuzione di frequenza per età dei casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo) mostra che nei gruppi di età fra i 15 ed i 20 anni, sia per i maschi che per le femmine, i casi sono

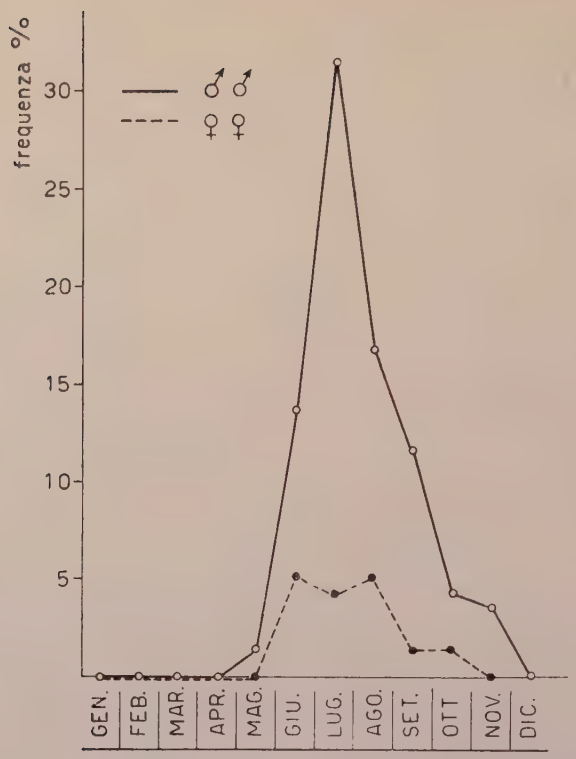


Fig. 4 — Distribuzione di frequenza mensile dei casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo ricoverati negli ospedali ed infermerie della Provincia di Roma (sono esclusi gli ospedali della città) negli anni dal 1938 al 1958. *(a)* maschi (su 114 casi); *(b)* femmine (su 24 casi).

frequenti; benché per i maschi i casi sono relativamente frequenti fino ai 50 anni.

Il grafico della Fig. 4 rappresenta la distribuzione di frequenza mensile dei casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo mostrando una frequenza più alta nei mesi da giugno a settembre (inclusi) con un massimo nel mese di luglio, per quanto riguarda i pazienti maschi; per le femmine il grafico mostra un aumento nei mesi da giugno ad agosto inclusi. Questi dati corrispondono a quanto già messo in rilievo per i casi segnalati in Italia per gli anni 1949-50 (1) e per i casi delle Province di Viterbo (2) e di Grosseto (3) per gli anni 1938-58.

Il grafico della Fig. 5 rappresenta la distribuzione della frequenza, secondo la durata del ricovero, dei casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo (su 136 casi maschi + femmine). La frequenza è più alta per il periodo di durata del ricovero di 1-5 giorni, massima per i 3 giorni (28% dei casi). Questi dati non differiscono molto da quelli relativi alle Province di Viterbo (2) e di Grosseto (3).

TABELLA 4

Distribuzione di frequenza, per « occupazione », dei casi « altamente probabili » e « probabili » di latrodectismo ricoverati negli ospedali ed infermerie della Provincia di Roma durante gli anni dal 1938 al 1958. (Sono esclusi gli istituti ospedalieri di Roma).

Occupazione		N. casi	%
Maschi		52	
	Agricoltori	7	65,8
	Militari	4	8,8
	Autisti o trattoristi	4	5
	Manovali	4	5
	Muratori	3	5
	Pastori	2	3,8
	Braccianti	1	2,5
	Guardiafili	1	1,2
	Facchini	1	1,2
	Guardiani	—	1,2
	Totale	79	
Femmine		8	73
	Casalinghe	2	18
	Contadine	1	9
	Scolare	—	
	Totale	11	

Per quanto riguarda le notizie circa « l'occupazione » dei ricoverati per latrodectismo, sono stati ottenuti dati solo su 90 ricoverati appartenenti ai casi « altamente probabili » + « probabili ». I dati sono riportati nella Tab. 4 ove si osserva che per i maschi la classe degli agricoltori è la più colpita (65% dei casi). Per quanto riguarda le femmine, il numero dei casi in nostro possesso è troppo basso per qualsiasi considerazione; tuttavia va notato che la classe delle casalinghe è la più colpita (73% dei casi), ma va anche ricordato che i soggetti sono stati morsi dal ragno quasi esclusivamente quando effettuavano lavori agricoli.

Non sono stati segnalati casi letali in seguito a morsi di serpenti, mentre ci risulta che nel 1952 un caso di latrodectismo, proveniente da Ostia, caso che non è stato elencato nella presente nota, e ricoverato all'Ospedale di S. Camillo ebbe esito letale alcuni giorni dopo il ricovero (fu identificato il ragno che aveva morso il paziente).

III - CONCLUSIONI

Dall'esame dei risultati per la Provincia di Roma si può concludere quanto segue:

1) I ricoveri per morso o puntura di Artropodi (182 casi) sono risul-

tati circa 3,5 volte più numerosi dei ricoveri per morso di serpente (50 casi).

2) Il totale dei casi di latrodectismo « altamente probabili » + « probabili », secondo la classificazione usata, è risultato, complessivamente per gli ospedali ed infermerie considerate, di 134 casi, con un rapporto sessi decisamente in favore dei maschi. Il numero dei casi « poco probabili » è risultato di 38. Un solo caso è risultato ricoverato per puntura di scorpioni, mentre 9 casi per punture di Imenotteri.

3) Oltre che nell'Ospedale di Civitavecchia, situato nella fascia costiera della Provincia, numerosi casi sono stati segnalati anche in istituti ospedalieri della zona collinosa che circonda Roma (Bracciano e Velletri). La

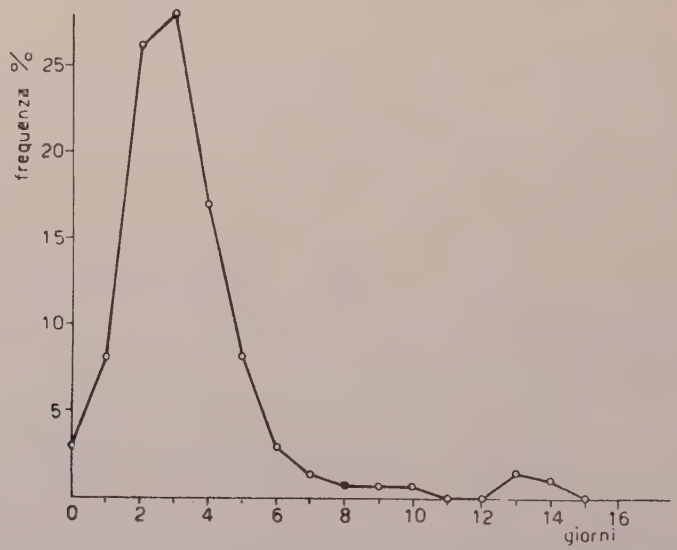


Fig. 5 — Distribuzione di frequenza per la durata del ricovero ospedaliero dei casi « altamente probabili » + « probabili » di latrodectismo ricoverati negli ospedali ed infermerie della Provincia di Roma (sono esclusi gli ospedali della città) negli anni dal 1938 al 1958.

frequenza più alta dei ricoveri si è riscontrata per l'ospedale di Civitavecchia.

4) L'andamento della frequenza dei casi di latrodectismo nel periodo fra il 1938 ed il 1958 mostra un considerevole aumento del numero dei casi durante gli anni 1947-48, con una punta massima nel 1948.

5) La distribuzione di frequenza per età dei casi di latrodectismo mostra una frequenza più alta per i gruppi di età dai 15 ai 20 anni, sia nei maschi che nelle femmine.

6) La distribuzione di frequenza mensile dei casi di latrodectismo mostra una frequenza notevolmente più alta per i mesi di giugno-set-

tembre, con un massimo per il mese di luglio, per i maschi, e per i mesi di giugno-agosto per le femmine.

7) La distribuzione di frequenza per la durata del ricovero è più alta per il periodo di durata di 1-5 giorni, massima per quello di 3 giorni.

8) Durante il periodo in esame si è verificato nella Provincia un solo caso letale nei ricoverati per morso di *Latrodectus* in un ospedale della città di Roma (tale caso non è stato incluso nei dati da noi elaborati); nessun caso letale nei ricoverati per puntura di altri Artropodi o per morso di serpenti.

RINGRAZIAMENTI: Ringrazio sentitamente, per avermi agevolato nella raccolta dei dati per il presente lavoro, i primari Proff. G. Barbera di Velletri, M. Ceciarelli di Bracciano e G. Falchi di Civitavecchia. Sono inoltre molto riconoscente al personale delle varie segreterie ospedaliere per avermi validamente aiutato nel rintracciare le cartelle nosologiche.

SURVEY ON THE CASES OF LATRODECTISMUS OCCURRED DURING THE YEARS FROM 1938 TO 1958 IN SOME PROVINCES OF ITALY. NOTE III — THE PROVINCE OF ROME

The epidemiolcgical data on latrodectismus in the Province of Rome during the years 1938-58 show that:

1) The « highly probable » + « probable » latrodectismus cases are 134, with a sex-ratio always in favour of males. 2) The cases were reported only from the coastal and low-hills zones of the Province, the highest frequency being observed at Civitavecchia's hospital. 3) The frequency of cases show a considerable increase *a)* during the years 1947-48, with the highest peak in 1948, *b)* in the groups of age between 15 and 20 years, in both sexes, and *c)* during the months of June-September, with the highest peak in July. 4) A period of 3 days hospital stay is most frequent. 5) A single lethal case of latrodectismus is reported (of which, however, the nosographical data are lacking).

BIBLIOGRAFIA

(1) BETTINI S. (1954): Distribuzione dei casi di latrodectismo in Italia durante gli anni 1949-51. *Rend. Ist. Sup. San. 17,* 333-342.

(2) BETTINI S. (1960): Indagine sui casi di latrodectismo verificatisi negli anni dal 1938 al 1958 in alcune Province d'Italia. Nota I - Provincia di Viterbo. *Riv. Parass. 21,* 21-39 (e *Rend. Ist. Sup. San. 23,* 213-232).

(3) BETTINI S. e FINIZIO E. (1960): Indagine sui casi di latrodectismo verificatisi negli anni dal 1938 al 1958 in alcune Province d'Italia. Nota II - Provincia di Grosseto. *Riv. Parass. 21,* 131-141 (e *Rend. Ist. Sup. San. 23).*

(4) GENNARI G. (1952): Sindrome addominale da morso di aracnide simulante l'ulcera gastrica o duodenale perforata. *Il Policlinico (Sez. Prat.) 59,* 1-9.

(5) GIULIANI V. (1954): Indagini sulla distribuzione del *Latrodectus tredecimguttatus* nel Lazio. *Gazz. Intern. Med. Chir. 59,* 589-596.

(6) GIUSTINIANI E. (1958): Comunicazioni personali.

(7) PAGANELLI A. (1937): L'araneismo nella Provincia di Roma. « *Rinnovamento Medico* » *Gazz. Intern. Med. Chir. 47,* 782-786.

(8) PAMPIGLIONE S. (1958): Il latrodectismo nella zona di Cerveteri. *Nuovi Ann. Ig. Microbiol. 9,* 1-11.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXI - N. 4 - Dicembre 1960

NOTE E OSSERVAZIONI

CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLE *MYZOMYIA* DEL SUD MAROCCHINO

GIUSEPPE SACCÀ (*)

La distribuzione delle 8 specie di *Anopheles* conosciute finora nel Marocco è stata oggetto di uno studio di Gaud, Fauré e Maurice (10) in cui è detto fra l'altro che *A. sergenti* costituisce più del 50% dell'anofelismo totale nella regione che si estende, dall'Oceano Atlantico al Sahara algerino, a sud della catena dell'Alto Atlante. Questo concetto è anche illustrato in fig. 2 del lavoro citato.

E' stato quindi con una certa sorpresa che, nell'esaminare il materiale da me raccolto durante alcune esplorazioni entomologiche eseguite in detta regione, vi ho riscontrato la presenza, in quantità spesso preponderante, di una specie ancora sconosciuta per il paese: *A. d'thali* Patton.

In tab. 1 è elencato il materiale da me studiato appartenente alle 4 *Myzomyia (d'thali, sergenti, hispaniola, multicolor)* e ad *A. labranchiae,* da me raccolto nel Sud Marocchino; nella stessa tabella vengono riportate le date e le località delle catture. Queste ultime sono state eseguite in occasione di esplorazioni entomologiche fatte durante la mia permanenza in Marocco in qualità di consulente entomologo dell'O.M.S.. Debbo pertanto ringraziare l'O.M.S. per avermi dato questa opportunità e il Governo marocchino per l'assistenza fornitami. Il materiale studiato è stato solo una parte di quello effettivamente raccolto; i dati forniti hanno comunque un certo interesse, se non altro per la straordinaria abbondanza (50% delle catture circa) di una specie mai prima d'oggi segnalata nel paese. Le catture risultarono particolarmente ricche nella Valle del Drâa (seconda metà di Maggio) dove si può osservare (fig. 2) che, procedendo verso sud, *A. hispaniola* è gradatamente sostituito da *A. d'thali.*

A. d'thali ha un areale piuttosto vasto. Esso è stato finora segnalato in Somalia, Etiopia, Sudan, Egitto, Israele, Arabia, India (2, 3, 4, 5, 6, 7, 11, 12, 13, 14, 15). Alcune catture riguardano anche il Sahara tunisino e algerino (8, 9, 16, 17, 18); una di queste ultime località è Beni-Abbès (6), distante in linea d'aria non più di 300 Km. da Erfoud e 350 da Tagounite (v. tab. I e fig. 1). Quasi tutti gli AA. citati sospettano che questa specie sia un vettore di malaria, basandosi su criteri epidemiologici; non ci risulta che alcuna dissezione di ghiandole salivari sia stata fatta fino ad oggi su di essa e il problema del suo potere vettore è tuttora aperto.

Gli esemplari adulti da me studiati sono stati catturati quasi esclusivamente nelle abitazioni. Il tipo di costruzione di gran lunga prevalente nel Sud marocchino, e dove le nostre ricerche si sono effettuate generalmente, è lo «Ksar» (plurale: Ksour) sorta di castello medievale costruito in fango disseccato con intelaiatura di legno di palme, il quale alberga tutta la popolazione del villaggio. All'interno dello Ksar a cui si accede solo da una o da poche porte praticate nella cinta delle mura, le singole abitazioni delle varie famiglie rimangono distinte ma addossate le une alle altre in un susseguirsi disordinato e pittoresco; il villaggio è percorso da piccole viuzze spesso coperte a guisa di tunnel; le abitazioni sono per lo più costituite da un piano terreno adibito a magazzino o stalla e un piano rialzato, dove esistono la cucina e le stanze da letto. Questi ultimi ambienti prendono luce ed aria da un ampio orificio praticato sul soffitto, mentre

(*) *Istituto Superiore di Sanità, Laboratori di Parassitologia, Roma.*

gli ambienti del piano terra sono oscuri e relativamente umidi. All'interno delle abitazioni vi sono spesso dei cortili, dove vengono ricoverati gli animali; molti ambienti del piano terra comunicano ampiamente con i cortili. Le nostre catture, sono state effettuate per lo più con il tubo aspiratore e, ove possibile, mediante polverizzazioni di piretro; esse erano rese disagevoli dalla complicata topografia dei luoghi e spesso dall'oscurità. Questo, insieme con le difficoltà di accesso all'interno degli Ksour dovute alla riluttanza della popolazione, giustifica in parte il fatto che le zanzare adulte catturate non siano molte (v. tab. I). Abbiamo potuto constatare che esse si rifugiano soprattutto negli ambienti più oscuri; non ne abbiamo catturate mai nel piano rialzato, i cui ambienti sono più luminosi e ventilati; le abbiamo al contrario catturate, di mattina e di pomeriggio, al piano terra, anche in assenza di animali, e talora nella tromba delle scale di accesso al piano superiore.

I focolai larvali hanno la loro sede lungo i letti dei fiumi; sono generalmente piccole raccolte d'acqua, prive o povere di vegetazione macroscopica; spesso si tratta di quantità di acqua minime, della profondità di qualche centimetro, frequentemente non comunicanti direttamente con la corrente, e mascherate da pietre; le larve vi brulicano in quantità enorme; il terreno circostante reca per lo più le evidenti tracce di cloruri che devono essere disciolti nell'acqua in quantità rilevanti.

* * *

Un cenno particolare merita qui anche *A. sergenti*, specie che potrebbe avere una certa importanza nel mantenimento dell'endemia malarica in Marocco.

TABELLA 1

Catture di d'thali sergenti, hispaniola, multicolor *e* labranchiae *effettuate nel Sud marocchino.*

Provincia	Località e data	*d'thali*	*sergenti*	*hispaniola*	*multicolor*	*labranchiae*
Agadir	Tamsruth sett. 1959	10 larve 1 ♂ 3 ♀♀	26 larve 6 ♂♂ 43 ♀♀	2 ♀♀		8 larve 4 ♀♀
Ouarzazate	dint. Tiseldei Maggio 1959			64 larve		
Ouarzazate	dint. Ouarzazate Maggio 1959			103 larve 1 ♂ 20 ♀♀		
Ouarzazate	dint. Agdz (valle del Draa) Maggio 1959	1 larva 1 ♀	11 larve 20 ♀♀	259 larve 2 ♂♂ 30 ♀♀		
Ouarzazate	dint. Zagora (valle del Draa) Maggio 1959	226 larve 21 ♀♀		11 larve 1 ♂ 3 ♀♀		
Ouarzazate	dint. Tagounite (valle del Draa) Maggio 1959	213 larve 5 ♀♀			11 larve 1 ♀	
Ksar-es-Souk	Aoufouss (valle del Ziz) Luglio 1959	42 larve		11 larve		
Ksar-es-Souk	Meski (valle del Ziz) Luglio 1959	1 ♂ 1 ♀	3 ♀♀			
Ksar-es-Souk	Erfoud (valle del Ziz) Luglio 1959	23 larve				
	Totali	515 larve 2 ♂♂ 31 ♀♀	37 larve 6 ♂♂ 66 ♀♀	448 larve 4 ♂♂ 53 ♀♀	11 larve 1 ♀	8 larve 4 ♀♀

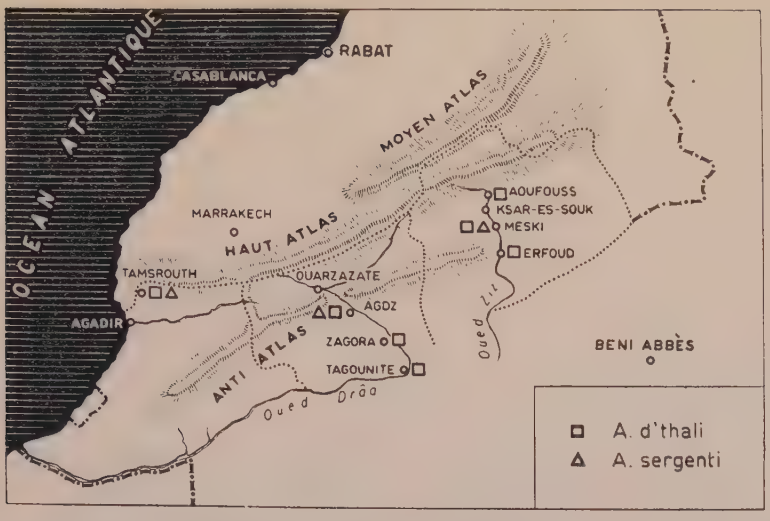


Fig. 1 — Località di cattura di *A. d'thali* e *A. sergenti* a Sud dell'Alto Atlante.

Le nostre catture di *A. sergenti* a Sud dell'Alto Atlante riguardano solo tre località (v. tab. 1 e fig. 1). Una parte di quelle della zona di Agdz si sono svolte in circostanze di qualche interesse che si prestano a deduzioni sulla biologia e, in particolare, sulle preferenze alimentari di questa specie. Tutte le alate in questione sono state catturate all'aria aperta, verso il tramonto, per mezzo di un retino entomologico, in prossimità di un focolaio larvale. La nostra attesa si protrasse dalle 19 alle 20.30 circa, ma il volo delle zanzare cominciò soltanto alle 19,40 e finì completamente alle 19,55; le zanzare erano attirate dalle nostre persone e, in effetti, tentavano di pungerci. Ne vennero catturate 34, tutte di sesso femminile, appartenenti a tre specie differenti.

TABELLA 2

Catture di Myzomyia *nella zona di Agdz (valle del Drâa) (24 Maggio).*

	densità larvale relativa nel focolaio (bordo del fiume Drâa)	densità relativa fra le ♀♀ catturate sull'esca umana
hispaniola	259 (96%)	15 (44.1%)
sergenti	11 (3.6%)	18 (52.9%)
d'thali	1 (0.4%)	1 (3%)

Tab. 2 e fig. 2 illustrano le proporzioni di *A. sergenti* constatate nelle catture larvali e in quelle di zanzare alate. Queste proporzioni erano ben maggiori nelle zanzare adulte, rispetto a quelle che avevamo constatato nelle catture larvali, e che, probabilmente, danno una idea più esatta su quella che era effettivamente la densità relativa delle tre forme in quel momento. Date le circostanze della cattura, questo fatto deporrebbe dunque per un importante grado di antropofilia di *A. sergenti* nei confronti di *A. hispaniola*, mentre non permette alcuna conclusione nei confronti di *A. d'thali*. I dati in oggetto sono riportati qui obiettivamente senza volerli sopravalutare: essi devono essere debitamente integrati da ulteriori e più ricche ricerche.

* * *

Dal contenuto di questa nota sembrerebbe dunque che *A. d'thali* sia la specie più abbondante del Sud marocchino e si potrebbe pensare che, in passato, forse sia stata talvolta confusa con *A. sergenti*. Può darsi però che quest'ultima, specie prevalentemente autunnale, diventi più numerosa in seguito e che appaia quindi in buon numero anche nelle località dove noi non l'abbiamo trovata. Sarebbe forse superfluo ricordare che *A. sergenti* è già noto come vettore, sia pure secondario, di malaria in numerosi altri paesi ma che questo ruolo deve essere ancora studiato per il Marocco; d'altronde as-

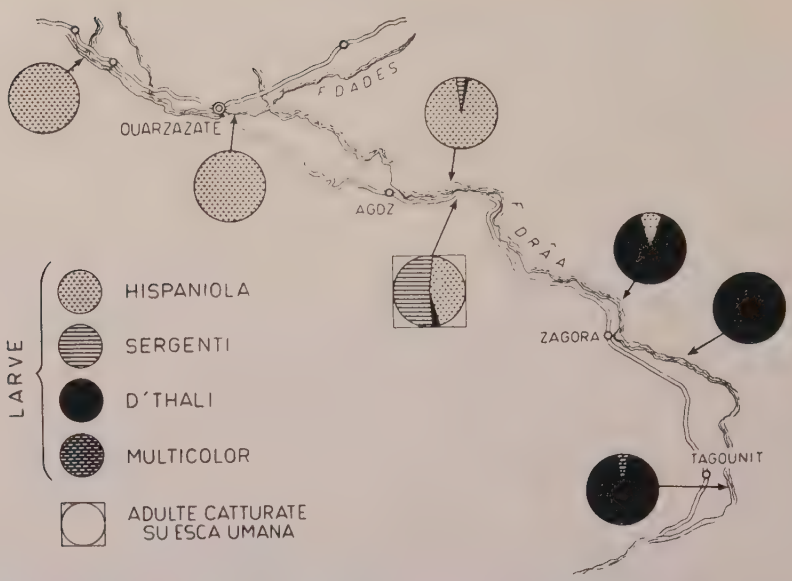


Fig. 2 — L'anofelismo nella Valle del Drâa. nel Maggio 1959.

solutamente nulla è dato sapere, per il momento, circa *A. d'thali*. Auspichiamo dunque che una accurata e metodica inchiesta possa presto far luce sulla distribuzione geografica e stagionale, sulla frequenza relativa e assoluta, sulla biologia e quindi sul ruolo vettore di queste due interessanti specie nel Sud-marocchino.

SUMMARY — Collections of Anophelines in the region South of the High Atlas chain, in Marocco, showed a hig proportion of *A. d'thali* specimens. The species had not been reported yet in that country, and it as suspected to be a vector of malaria by many authors elsewhere. It is suggested that a careful inquiry in the study of the transmission power of both *A. d'thali* and *A. sergenti* in South Marocco should be carried out.

BIBLIOGRAFIA

1) CHRISTOPHERS S. R. e PURI J. M. (1931): *Ind. Jl. Med. Rcs., 18*, 1133-1166.
2) CORRADETTI A. (1938): *Riv. Paass., 2*, 49-54.
3) CORRADETTI A. (1938): *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 13*, 114-115.
4) CORRADETTI A. (1939): *Riv. Parass., 3*, 207-219.
5) CORRADETTI A. (1939): *Riv. Parass., 3*, 287-292.
6) DE MEILLON B. (1947): The Anophelini of the Ethiopian Geographical Region - Publ. S. Afr. Inst. Med. Res. N. XLIX, Vol. X.
7) EVANS A. M. (1938): Mosquitoes of the Ethiopian Region - II. Anophelini, adults and early stages. British Museum (Natural History).
8) FOLEY H. (1933): *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. N. 24*, 342-343.
9) FRATANI L. (1939): *Arch. Inst. Past. Alg., 17*, 429-437.
10) GAUD J., FAURE' J., MAURICE A. (1950): *Ann. Par. hum. comp, 25*, 53-60.
11) KIRKPATRICK T. W. (1925): The Mosquitoes of Egypt - Egypt. Govt. Anti-mal. Commiss., Cairo.
12) LEGA G., RAFFAELE G., CANALIS A. (1937): *Riv. Malar., 16*, 325-387.
13) MARSH F. (1933): Ann. Rep. Med. Dept. Anglo-Persian Oil Co., 1932, 53-71.
14) MELVILLE A. R., WILSON D. B., GLASGOW J. P., HOCKING K. S. (1945): *E. Afr. med. Jl., 22*, 285-294.
15) PATTON W. (1935): *Jl. Bombay Nat. Hist. Soc., 16*, 627.
16) SENEVET G. (1958): Les Anopheles du Globe-Paris, Lechevalier.
17) SENEVET G. e ANDARELLI L. (1956): Les Anopheles de l'Afrique du Nord et du Bassin Méditerranéen - Paris, Lechevalier.
18) SENEVET G. e FRATANI L. (1938): *Arch. Inst. Past. Alg., 16*.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XXI - N. 4 - Dicembre 1960

RECENSIONI

LEIBERSPERGER E.: *Die Oxyuroidea der europäischen Arthropoden*. Parasitologische Schriftenreihe Heft 11. pp. IV+150, figg. 39. Gustav Fischer, Jena 1960. DM 14,20.

Con questo libro l'A. apporta un contributo assai notevole in quel campo ancor giovane della nematologia, come egli stesso dice, che è dato dagli Oxyuroidea parassiti di Artropodi. Egli ha infatti studiato nei loro dettagli strutturali 20 specie, con particolare riguardo alla cavità boccale, all'esofago e al bulbo esofageo, ciò che gli ha consentito di affrontare vari problemi — morfologici, embriologici, ecologici, filogenetici e sistematici — puntualizzandone lo status e spesso contribuendo alla loro soluzione.

Il libro consta di due parti. Nella prima, generale, dopo una premessa storica ed un breve paragrafo sul materiale e metodo di studio, vengono trattate nei loro aspetti generali le risultanze delle ricerche compiute. Essa si conclude con un utile elenco degli Oxyuroidea parassiti di Artropodi nel mondo, aggiornamento di quello compilato da Skrjabin (1954), e l'elenco degli Artropodi risultati non parassitati nelle ricerche svolte. Nella seconda parte, sistematica, sono illustrate con ampi dettagli tutti i generi e le specie presenti in Europa, e cioè 11 generi di *Thelastomatidae* con 35 specie, di cui 9 nuove (una delle quali con 5 sottospecie), più 2 *species inquirendae*, ed un genere con una sola specie di *Oxyuridae*. Ottime chiavi analitiche consentono un'agevole determinazione dei generi e delle specie.

L'opera, cui è facile prevedere un buon accoglimento da parte dei parassitologi, è completata da una nitida e precisa iconografia, da un'ampia bibliografia di 176 titoli (più 5 relative agli Artropodi), e da un indice dei nomi.

M. RICCI

WATSON J. M.: *Medical Helminthology*, pp. XI+487, figg. 62. Baillière, Tindall & Cox, London 1960, 84 sc.

E' questo un nuovo ottimo trattato di elmintologia medica che certamente diventerà di uso corrente per quanti sono interessati all'argomento. Della cura della sua compilazione, come completezza e precisione delle informazioni in particolare, il nome stesso dell'A. è garanzia; si aggiunga che questi ha spinto il suo scrupolo fino a far rivedere le varie parti ai rispettivi maggiori specialisti della materia.

Il libro consta di tre parti e di un'appendice. La prima parte è di introduzione generale alla elmintologia medica, trattando nei suoi undici capitoli tutti gli aspetti generali della materia: da una rassegna storica alla zoologia degli elminti, dai rapporti tra essi e gli ospiti alla distribuzione geografica delle elmintiasi, ai problemi dell'evoluzione degli elminti parassiti. La seconda parte, ovviamente la più vasta, è dedicata alla sistematica e, diversamente da quanto di solito avviene, le singole specie di elminti parassiti dell'uomo sono trattate a seconda della loro localizzazione: i Nematodi sono così divisi in due sezioni, nematodi intestinali (A) e nematodi tissulari (B), ciascuna comprendente vari capitoli corrispondenti alle diverse famiglie; i Trematodi (sez. C), in parassiti del tubo digerente, del fegato, dei polmoni, del sistema circolatorio, della pelle; i Cestodi (sez. D), in adulti parassiti del tubo digerente e larvali parassiti dei tessuti. Le sezioni E,F,G, trattano rispettivamente degli Acantocefali, degli Irudinei e dei Pentastomidi. Esaurienti notizie sui caratteri generali delle varie classi precedono regolarmente la trattazione delle specie. Il sistema, considerato più conveniente dal punto di vista clinico, ha ovviamente vantaggi e svantaggi. Il trattare in gruppo le filarie o

gli schistosomi presenta ad esempio indubbi vantaggi; si ha però anche lo svantaggio di una frammentazione delle notizie che riguardano una stessa specie.

La terza parte si occupa degli aspetti clinici e di sanità pubblica delle elmintiasi, considerando in quattro capitoli i problemi della diagnosi, degli ospiti intermedi, della terapia e della profilassi di esse. Quanto alle appendici esse riguardano: la bibliografia, con indicazione delle principali fonti, divise per gruppi, per un approfondimento della materia; la nomenclatura zoologica; gli elminti parassiti dei comuni animali di laboratorio; i Gordiacei ed i Mermitidi; i più recenti progressi in argomento, quelli cioè verificatisi tra il 1952, data di inizio della compilazione del volume, e quella della sua pubblicazione. Un preciso e dettagliato indice analitico completa l'opera.

L'iconografia, originale per più della metà, consta di alcune centinaia di disegni, raccolti in 62 figure per lo più a piena pagina, ed è in linea di massima buona. 20 tabelle arricchiscono l'opera condensando organicamente in breve spazio molte interessanti notizie. Il libro è di grande formato, stampato su doppia colonna; un appropriato uso di caratteri e spazi pone bene in risalto i diversi argomenti.

Un'opera eccellente sotto ogni punto di vista.

M. RICCI

Virus virulence and pathogenicity. Ciba Foundation Study Group N. 4. VIII+114 pp. J. & A. Churchill Ltd., London, 1959. s.i.p.

Questa piccola pubblicazione contiene sei relazioni, fatte in occasione di una specie di piccolo simposio, tenutosi in onore del Prof. Mulder, uno studioso olandese molto noto come clinico e come virologo dell'influenza. Il tema della discussione era uno dei più difficili, la virulenza dei virus e la loro capacità patogena: infatti si potrebbe dire che esistono tante definizioni di virulenza, quanti sono coloro che hanno cercato di chiarirne il significato.

Come rileva Burnet nel suo breve discorso introduttivo, la virulenza non è un carattere assoluto, ma dipende completamente e dall'ospite e dal parassità e dalle relazioni che intercedono fra i due. Vale la pena di scorrere queste poche pagine, dense di dati in gran parte ormai già noti, in cui i vari partecipanti espongono le loro opinioni sul soggetto da trattare considerato sotto diversi aspetti: quello della definizione e della misura della virulenza; quello dei fattori cellulari che sembrano influire su questa proprietà; degli effetti che hanno sulla virulenza i cambiamenti dell'ospite e del parassita; del significato della virulenza per l'uomo dei virus influenzali. Particolarmente interessante è la relazione di Kilbourne, il quale sostiene che il virus influenzale non ha mai variato di virulenza, ma che questa è dipesa dall'ospite e dall'ambiente.

Ad ogni esposizione fa seguito una nutrita discussione, mentre alla fine ve ne è una di ordine generale in cui fra l'altro si riafferma la difficoltà di avere un'idea completa della virulenza, ma si ritiene di avere chiarito, almeno in parte alcuni dei suoi aspetti. E questo è già parecchio.

I. ARCHETTI

Direttore responsabile: Dott. E. MOSNA

Tipografico Editrice dell'Orso — Roma, Via dell'Orso, 28

INDICE DEL VOLUME XXI

1960

BARUFFA G. — Osservazioni sulla epidemiologia della schistosomasi vescicale nel distretto di Gelib (Basso Giuba, Somalia) . . Pag. 1

BETTINI S. — Indagine sui casi di latrodectismo verificatisi negli anni dal 1938 al 1958 in alcune provincie d'Italia. Nota I. Provincia di Viterbo . . . . . » 21

BETTINI S. — Indagine sui casi di latrodectismo verificatisi negli anni dal 1938 al 1958 in alcune provincie d'Italia. Nota III. Provincia di Roma . . . . . » 307

BETTINI S., FINIZIO E. - Indagine sui casi di latrodectismo verificatisi negli anni dal 1938 al 1958 in alcune provincie d'Italia Nota II. Provincia di Grosseto . . . . . » 131

BRAY R. S. — Observations on the cytology and morphology of the mammalian malaria parasites. I. A process of apparent plasmotomy in the preerythrocytic phase of *Laverania falciparum* . » 267

BRUNO-SMIRAGLIA C. — Ricerche citogenetiche sull'*Anopheles labranchiae* in Sicilia . . . . . » 65

FEIDER Z., SOLOMON L. — Une nouvelle espèce du genre *Laelaps* (Acari) parasite des rongeurs de la Roumanie . . . . . » 217

LEBIED B. — Mise au point à propos d'une nouvelle méthode de dissection des vecteurs des filarioses. Le but de cette méthode . » 71

LIPS M. — Anophèles du Congo Belge. 2. Quelques espèces des galeries forestières . . . . . » 39

LIPS M. — Anophèles du Congo. 3. Faune des grottes et des anfractosités . . . . . » 289

MAGAUDDA-BORZÌ L., PENNISI L., BERTUCCI B. — La sierologia dell'amebiasi. Nota VI. Studio sulla influenza degli antigeni batterici in

prove di r.d.c. su sieri « normali » saggiati con criolisati ottenuti da varie *Entamoeba* (*E. histolytica, E. invadens, E. moshkovskii*) e dalle relative flore batteriche associate . . . . . » 249

Mer G. G., Paz M. — Control of house-flies in rural areas by means of traps . . . . . » 143

Meyus H., Clerx J., Evens F. — La bilharziose à *Schistosoma mansoni* du sud du Lac Kivu . . . . . » 165

Ricci M., Cresta M. — Ricerche sull'accrescimento infantile, in relazione al parassitismo intestinale, nel Comune di Rofrano (Salerno) » 199

Rivosecchi L. — Un nuovo simulide dell'Agro Pontino . . . . . » 229

Simitch Tsch. — Le paludisme en Yugoslavie, jadis et maintenant . » 81

Sobrero R. — Animali domestici ospiti naturali di *Schistosoma bovis* in Somalia . . . . . » 125

Stefani R. — La parassitosi da *Diplocystis* negli Embiotteri con particolare riguardo all'azione patogena esercitata dal parassita sull'ospite . . . . . » 87

Stefani R. — I rapporti tra parassitosi, sterilità maschile e partenogenesi accidentale nelle popolazioni naturali di *Haploembia solieri* » 277

Vercammen-Grandjean P. H. — La nymphe de *Multigniella cosmetornis* Vercammen-Grandjean et Fain 1957 (*Acarina. Trombiculidae*) » 13

Note e Osservazioni:

De Carneri I. — A diffuse misconcept: cysticidal activity required for antiamebic drugs . . . . . » 245

Ricci M., Gagliano E. — Note sull'azione antielmintica della ditiazanina . . . . . » 151

Saccà G. — Resistenza al Dieldrin di *A. labranchiae* Fall. in Marocco » 154

Saccà G. — Contributo alla conoscenza delle *Myzomyia* del Sud Marocchino . . . . . » 319

Recensioni . . . . . » 157

» . . . . . » 247

» . . . . . » 323